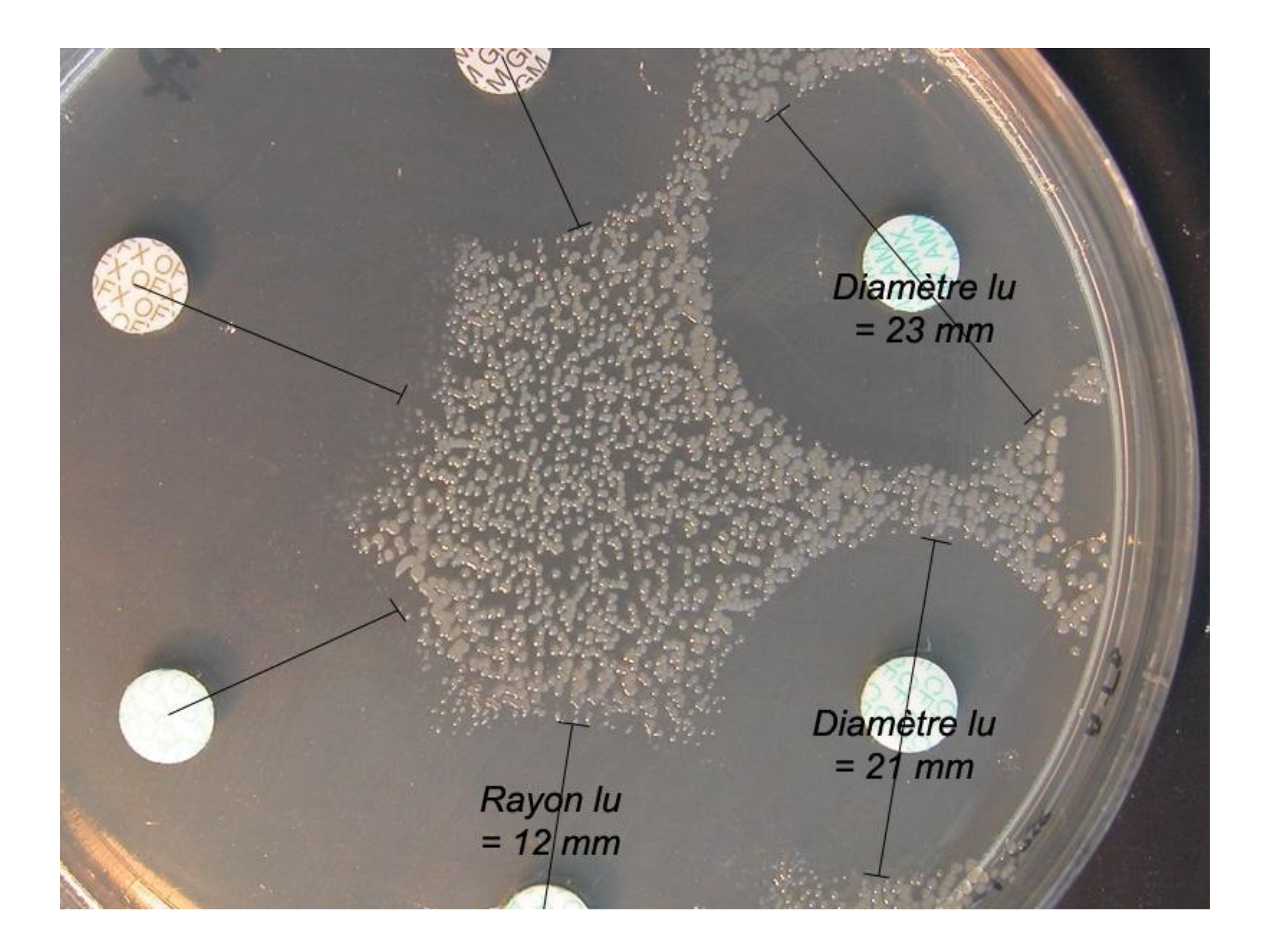
Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications

DOCUMENTATION TECHNIQUE

ETUDE DE LA SENSIBILITE AUX ANTIMICROBIENS



ANTIBIOGRAMME EN MILIEU GELOSE

ANTIBIOGRAMME EN MILIEU SEMI-GELOSE

DETECTION D'ACTIVITE ENZYMATIQUE

ANTIFONGIGRAMME EN MILIEU SEMI-GELOSE

Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications

COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE (CA-SFM) RECOMMANDATIONS 2010



EXTRAIT DE L'AVANT PROPOS DES RECOMMANDATIONS 2010 (EDITION JANVIER 2010)

DEFINITION DES CATEGORIES CLINIQUES

Trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité in vitro : Sensible (S), Résistant (R) et Intermédiaire (I).

• Les souches catégorisées S sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voie systémique avec la posologie recommandée dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP), rédigé par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS).
• Les souches catégorisées R sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée.
• Les souches catégorisées I sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible. Ces souches forment un ensemble hétérogène pour lequel les résultats obtenus *in vitro* ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique. En effet, ces souches :
- peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression *in vitro* est faible, avec pour conséquence leur classement dans la catégorie S. Cependant, *in vivo*, une partie de ces souches apparaît résistante au traitement ;
- peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression n'est pas suffisante pour justifier un classement dans la catégorie R, mais suffisamment faible pour espérer un effet thérapeutique dans certaines conditions (fortes concentrations locales ou posologies accrues) ;

La catégorie intermédiaire est aussi une zone tampon qui tient compte des incertitudes techniques et biologiques.

ETABLISSEMENT DES VALEURS CRITIQUES DELIMITANT LES CATEGORIES CLINIQUES

Les valeurs des concentrations et des diamètres critiques définies pour chaque antibiotique sont établies en tenant compte de plusieurs paramètres :

• la distribution des concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour des populations de souches définies et appartenant à chacune des espèces bactériennes impliquées en pathologie humaine ;
• les concentrations humorales et tissulaires qui sont obtenues avec les posologies recommandées dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP) ;
• la confrontation des résultats obtenus *in vitro* et des résultats obtenus in vivo (essais cliniques) ;
• la variabilité statistique des méthodes utilisées pour mesurer les CMI et les diamètres des zones d'inhibition.
Ainsi sont définies deux concentrations critiques : la concentration critique basse c (ou cci) et la concentration critique haute C (ou ccs) auxquelles correspondent des diamètres critiques D, et d, respectivement.

PROCEDURE ET CRITERES DE CATEGORISATION DES SOUCHES

Aux regards des concentrations et des diamètres critiques sont considérées comme:

• sensibles (S), les souches pour lesquelles la CMI de l'antibiotique testé est inférieure ou égale à la concentration critique basse (cci), ce qui équivaut à un diamètre supérieur ou égal au diamètre critique D (Tableau I) ;
• résistantes (R), les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé est supérieure à la concentration critique haute ccs, correspondant à un diamètre inférieur au diamètre critique d (Tab. I) ;
• de sensibilité intermédiaire (I), les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé et du diamètre correspondant sont compris entre les deux concentrations critiques et les deux diamètres critiques (Tableau I). (…).

Tableau I : Critères de catégorisation selon les valeurs critiques

Catégorie	CMI (mg/L)	Diamètre (Ø) (mm)
S	CMI ≤ c	Ø ≥ D
R	CMI > C	Ø < d
I	c < CMI ≤ C	d ≤ Ø < D

LECTURE INTERPRÉTATIVE DE L'ANTIBIOGRAMME

La lecture interprétative de l'antibiogramme, fondée sur la connaissance des phénotypes de résistance conduit dans certains cas à transformer un résultat initialement catégorisé S en résultat I ou R en raison d'un risque d'échec thérapeutique. De plus, pour quelques couples bactérie-antibiotique, malgré une catégorisation « sensible », le risque accru de sélection *in vivo* de mutants résistants justifie un commentaire particulier destiné au clinicien.

Ceci requiert au préalable l'identification correcte de la souche bactérienne et une méthode d'antibiogramme standardisée.

L'identification formelle du (ou des) mécanisme(s) de résistance impliqué(s) impose la mise en place de techniques spécifiques.

Les règles de lecture interprétative sont mentionnées, pour certaines espèces ou pour certains groupes bactériens, dans les notes additionnelles des tableaux VII à XIX du supplément annuel.

HARMONISATION EUROPEENNE (Bull. Soc. Fr. Microbiol., Octobre 2004, Vol. 19, n°3 : 191-193)

Le besoin d'une harmonisation européenne dans la méthodologie des tests de sensibilité aux antibiotiques et leur interprétation a été ressenti il y a déjà de nombreuses années.

Ceci a conduit en 2002 à la création de l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) qui est composé d'une part d'un General Committee qui comporte un représentant par pays européen et se réunit une fois par an et d'autre part d'un Steering Committee composé de deux représentants du General Committee et surtout d'un représentant de chacun des six comités nationaux reconnus comme actifs en raison de leur ancienneté, de la fréquence de leurs réunions et de leur notoriété attestée par des publications régulières : - France : CA-SFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) - Allemagne : DIN (Deutsches Intitut für Normung) - Pays-Bas : CRG (Commissie Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen) - Norvège: NWGA (Norwegian Working Group on Antibiotics) - Suède: SRGA (Swedish Reference Group for Antibiotics) - Royaume-Uni: BSAC (British Society for Antimicrobial Chemotherapy)

Le Steering Committee se réunit quatre fois par an. Les objectifs de l'EUCAST ont été définis de la façon suivante :

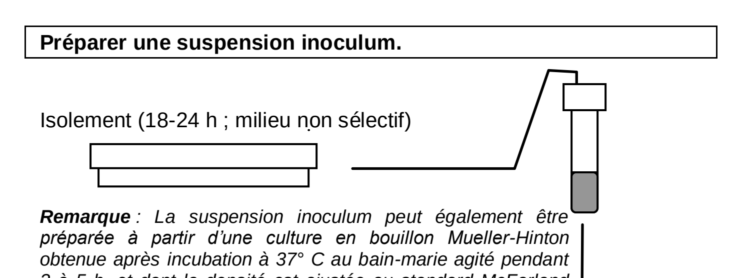
• standardiser les méthodologies ;
• s'accorder sur l'expression des concentrations critiques : celle qui a toujours prévalu en France a été retenue, soit S ≤ x mg/L et R > y mg/L ;
• établir des « cut-off values » séparant pour chaque couple espèce-antibiotique, la population des souches sauvages de celles porteuses d'un ou plusieurs mécanismes de résistance acquise ;
• établir des concentrations critiques pour la catégorisation clinique, d'une part en rédigeant en accord avec l'EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) une procédure pour les nouveaux antibiotiques et d'autre part en tentant d'harmoniser les concentrations critiques nationales des antibiotiques existants sur de nouveaux arguments solides, notamment des points de vue pharmacocinétique et pharmacodynamique ainsi que clinique.
(…)

Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications

METHODOLOGIE DE REALISATION DE L'ANTIBIOGRAMME PAR DIFFUSION EN MILIEU GELOSE

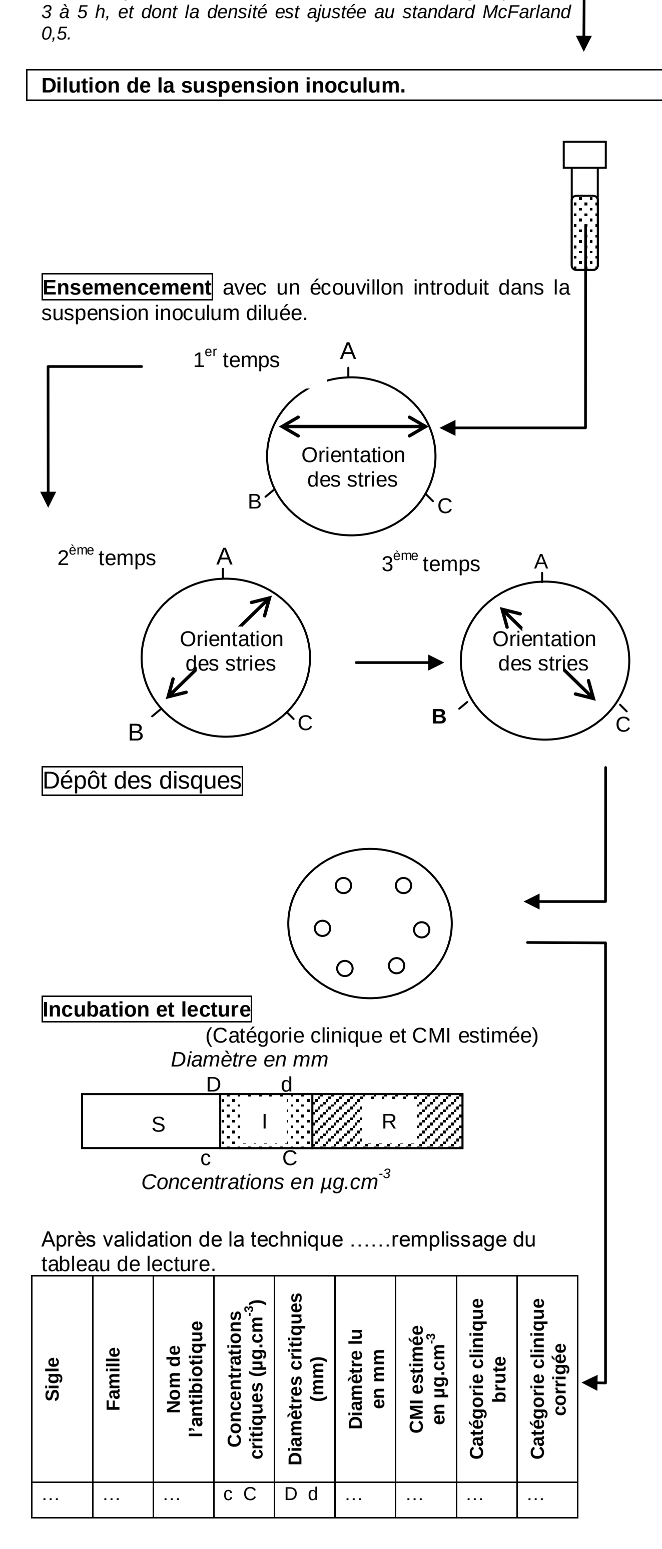
(Selon les recommandations 2010 du CA-SFM)

Préparer une suspension inoculum.



***Remarque** : La suspension inoculum peut également être préparée à partir d'une culture en bouillon Mueller-Hinton obtenue après incubation à 37° C au bain-marie agité pendant 3 à 5 h, et dont la densité est ajustée au standard McFarland 0,5.*

Dilution de la suspension inoculum.



Après validation de la technique ……remplissage du tableau de lecture.

Sigle	Famille	Nom de l'antibiotique	Concentrations critiques (µg.cm-3)	Diamètres critiques (mm)	Diamètre lu en mm	CMI estimée en µg.cm-3	Catégorie clinique brute	Catégorie clinique corrigée
…	…	…	c C	D d	…	…	…	…

Puis phrase(s) de compte rendu de lecture interprétative.

1. A partir d'une **culture pure** (18-24 heures sur milieu non sélectif adapté aux exigences de la souche), préparer une suspension inoculum en eau physiologique (ou bouillon Mueller-Hinton) équivalente au standard **Mc Farland 0,5** (1)(~ 10^8 UFC / cm^3)*.

(1) Suspension au standard 1 McF (~ 10^8 UFC / cm^3) en bouillon Brucella ou Schaedler pour les anaérobies ; 1 McF (~ 10^8 UFC / cm^3)* pour N.gonorrhoeae et 0,5 McF (~ 10^6 UFC / cm^3)* pour N. meningitidis en tampon phosphate M/15 pH 7,2.*

2.

Bactéries	Dilution en bouillon Mueller-Hinton (ou solution saline 0,9 % NaCl)
Neisseria gonorrhoeae (3)	**dilution au 1/100** de la suspension inoculum à 0,5 McF (~ 10^6 UFC / cm^3)*. [0,1 cm^3 dans 10 cm^3 ou bien encore deux gouttes de pipette Pasteur dans 10 cm^3]
Enterobacteriaceae, bacilles Gram negatives non fermentaires *Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas maltophilia, Burkholderia cepacia ... Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* spp., *Haemophilus influenzae. Campylobacter* spp.(2)	**dilution au 1/10** de la suspension inoculum à 0,5 McF (~ 10^7 UFC / cm^3)* [1 cm^3 dans 9 cm^3 ou bien encore 20 gouttes de pipette Pasteur dans 9 cm^3].
Neisseria meningitidis (3) Anaérobies(1)	**Pas de dilution** de la suspension inoculum (0,5 ou 1 McF).

(1) Suspension inoculum faite en bouillon Brucella ou Schaedler
(2) Suspension inoculum faite en bouillon Brucella ou eau physiologique.
(3) Suspension inoculum faite en tampon phosphate M/15 pH 7,2.

3. Avec un écouvillon essoré, ensemencer toute la surface du milieu en stries serrées (successivement 3 orientations décalées de 60°).

Bactéries	Milieu
Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *S. maltophilia*, *B. cepacia*, *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp.,	**Gélose Mueller-Hinton** (4 mm d'épaisseur)
N. meningitidis(4) *Streptococcus pneumoniae*(4), *Streptococcus* spp(4), *Campylobacter* spp(5)	**Gélose Mueller-Hinton + sang** *(4) 5% sang de mouton ou 5% de sang hémolysé de cheval avec le cotrimo-xazole ; (5) 5% de sang de mouton ou de cheval*
Haemophilus influenzae, Neisseria gonorrhoeae.	**Gélose Chocolat PolyVitex®** (ou milieu HTM pour *H. influenzae*)
Anaérobies	**Gélose Willkins Chalgren + 5% sang ou Brucella + vit K1(1 mg/L) + 5% sang**

4. Déposer les disques (maximum 6 pour une boite de 90 mm) à la surface de la gélose en les appliquant délicatement à la pince stérile.
Remarque : Pour *Nesseria meningitidis et Neisseria gonorrhoeae* déposer les disques à une distance de 60 mm de centre à centre pour éviter le chevauchement des zones d'inhibition.

5.

Bactéries	Lecture après ….
Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *S. maltophilia*, *B cepacia*, *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *H. influenzae*. *Streptococcus* spp., *Streptococcus pneumoniae*	**Incubation en aérobiose 18-24 h à 37°C**
Neisseria gonorrhoeae, N. meningitidis.	**Incubation en atmosphère contenant 5 % CO_2 18-24 h à 37°C** (Pour *N. gonorrhoeae* 36-40 h si croissance insuffisante)
Campylobacter spp	**18-24 h à 37°C en microaérobiose** (ou anaérobiose selon les souches)
Anaérobies	**48 h à 37°C en anaérobiose**

**** La correspondance entre échelle de Mac Farland et UFC/mL est différente en fonction des groupes bactériens***

RESISTANCES NATURELLES AUX ANTIBIOTIQUES DES PRINCIPALES ESPECES BACTERIENNES D'INTERET MEDICAL

(Selon les recommandations 2010 du CA-SFM)

La résistance naturelle est caractéristique d'une espèce bactérienne. Elle délimite le spectre naturel de l'antibiotique et constitue une aide à l'identification. La résistance naturelle se traduit habituellement par des CMI supérieures à la valeur critique basse de concentration (c) de l'antibiotique concerné. Si ce n'est pas le cas, par précaution, interpréter en fonction de la résistance naturelle de l'espèce.

BACILLES A GRAM NEGATIF NON EXIGEANTS

Pénicilline G, oxacilline, macrolides, kétolides, lincosamides, streptogramines, acide fusidique, glycopeptides, oxazolidinones.

ENTEROBACTERIES

Tableau IV – Résistance naturelle chez les entérobactéries.

	AM	AMC	TIC/ PIP	C1G	FOX	CTT	MA	CXM	GM	TET	COL	FT
Klebsiella spp.	R		R									
C. koseri	R		R									
C. freundii	R	R		R	R	R						
E. cloacae	R	R		R	R	R						
E. aerogenes	R	R		R	R	R						
S. marcescens	R	R		R			R	R			R	
P. mirabilis										R	R	R
P. vulgaris	R			R			R	R		R	R	R
M. morganii	R	R		R			R	R		R	R	R
P. stuartii	R	R		R					R	R	R	R
Y. enterocolitica	R	R	R	R	R		R	R				

R : résistance naturelle

AM : aminopénicillines ; AMC : amoxicilline + acide clavulanique ; TIC : ticarcilline ; PIP : pipéracilline ; C1G : céphalosporines de 1ère génération ; FOX : céfoxitine ; CTT : céfotétan ; MA : céfamandole ; CXM : céfuroxime ; GM : gentamicine ; TET : tétracyclines y compris la tigécycline ; COL : colistine, polymyxine B ; FT : nitrofuranes.

BACILLES A GRAM NEGATIF NON FERMENTAIRES

PSEUDOMONAS AERUGINOSA : aminopénicillines, céphalosporines 1ère et 2ème génération, céfotaxime, ceftriaxone, ertapénème, kanamycine, tétracyclines, chloramphénicol, triméthoprime, quinolones.

ACINETOBACTER BAUMANNII, ACINETOBACTER CALCOACETICUS : aminopénicillines, céphalosporines 1ère et 2ème génération, ertapénème, fosfomycine, triméthoprime, furanes.

AUTRES BACILLES A GRAM NEGATIF NON FERMENTAIRES : aminopénicillines, céphalosporines 1ère et 2ème génération, ertapénème. Voir aussi le ***tableau V***.

Tableau V – Résistance naturelle chez les bacilles à Gram négatif non fermentaires

	TIC	**TCC**	**PIP**	**CTX**	**CAZ**	**IPM**	**QUI**	**C**	**TMP**	**FOS**	**COL**
S. maltophilia	R		R	R		R			R	R	
B. cepacia	R	R				R	R	R	R	R	R
A. denitrificans				R							
C. meningosepticum	R	R	R	R	R	R	R				R
O. anthropi	R	R	R	R	R						

R : résistance naturelle

TIC : ticarcilline ; TCC : ticarcilline + ac. clavulanique ; PIP: pipéracilline ; CTX: céfotaxime ; CAZ : ceftazidime ; IPM : imipénème ; QUI : quinolones; C : chloramphénicol ; TMP: triméthoprime ; FOS : fosfomycine ; COL : colistine, polymyxine B

S. MALTOPHILIA

La résistance intrinsèque aux aminosides est observée uniquement après incubation à 30°C. Interpréter I, un résultat S obtenu après incubation à 37° C.

AEROMONAS

Aminopénicillines (sauf *Aeromonas trota*), céphalosporines de 1ere et de 2eme génération (sauf *Aeromonas veronii*), ertapénème.

BACILLES A GRAM NEGATIF EXIGEANTS

HAEMOPHILUS : macrolides (cycle à 16 atomes : spiramycine, josamycine, midécamycine), lincosamides.
CAMPYLOBACTER : aztréonam, novobiocine, streptogramines, triméthoprime, glycopeptides.
CAMPYLOBACTER JEJUNI, CAMPYLOBACTER COLI ET CAMPYLOBACTER LARI : céphalosporines de 1ère génération.
CAMPYLOBACTER FETUS ET CAMPYLOBACTER LARI : quinolones.

COQUES A GRAM POSITIF
Mécillinam, aztréonam, quinolones, colistine.

STAPHYLOCOCCUS SAPROPHYTICUS : fosfomycine, novobiocine.
STAPHYLOCOCCUS COHNII ET STAPHYLOCOCCUS XYLOSUS : novobiocine, lincomycine.
MICROCOCCUS : furanes.
STREPTOCOCCUS (dont *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*) : aminoglycosides (bas niveau), péfloxacine.
ENTEROCOCCUS : oxacilline, céphalosporines, ertapénème, aminoglycosides (bas niveau), péfloxacine, fosfomycine (bas niveau), sulfamides.
ENTEROCOCCUS FAECALIS : lincosamides, streptogramines A.
ENTEROCOCCUS GALLINARUM - ENTEROCOCCUS CASSELIFLAVUS / FLAVESCENS : glycopeptides[1].
PEDIOCOCCUS – LEUCONOSTOC : glycopeptides.

BACILLES A GRAM POSITIF
Mécillinam, aztréonam, colistine, polymyxine B, quinolones.

LISTERIA MONOCYTOGENES : oxacilline, céphalosporines, lincosamides, fosfomycine, fluoroquinolones (bas niveau).
ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE : glycopeptides.
CORYNEBACTERIUM UREALYTICUM - CORYNEBACTERIUM JEIKEIUM : bêta-lactamines, aminosides, macrolides, lincosamides, sulfamides.
RHODOCOCCUS EQUI : streptogramines, lincosamides.
BACILLUS CEREUS : pénicilline G, amino- et carboxy- pénicillines, céphalosporines.
NOCARDIA ASTEROIDES – NOCARDIA FARCINICA : triméthoprime, vancomycine, rifampicine, fluoroquinolones.
LACTOBACILLUS : sulfamides.
LACTOBACILLUS HETEROFERMENTAIRES : glycopeptides.

COQUES A GRAM NEGATIF

NEISSERIA : triméthoprime, glycopeptides;
NEISSERIA MENINGITIDIS - NEISSERIA GONORRHOEAE : lincosamides, colistine, polymyxine B.
BRANHAMELLA CATARRHALIS : lincosamides, triméthoprime.
MORAXELLA : triméthoprime.

BACTERIES ANAEROBIES STRICTES
Aminosides, aztréonam (sauf *Fusobacterium*), triméthoprime, quinolones.
BACTEROIDES DU GROUPE FRAGILIS : aminopénicillines, céphalosporines 1ère génération, céfamandole, céfuroxime, colistine, polymyxine B, glycopeptides, fosfomycine.
PREVOTELLA : glycopeptides, fosfomycine.
PORPHYROMONAS : fosfomycine, colistine, polymyxine B.
FUSOBACTERIUM : macrolides (bas niveau).
FUSOBACTERIUM VARIUM - FUSOBACTERIUM MORTIFERUM : rifampicine.
CLOSTRIDIUM - EUBACTERIUM – PEPTOSTREPTOCOCCUS : colistine, polymyxine B, fosfomycine
CLOSTRIDIUM DIFFICILE : céphalosporines.
CLOSTRIDIUM INNOCUUM : vancomycine (bas niveau).
ACTINOMYCES – PROPIONIBACTERIUM : céphalosporines 1ère génération, nitroimidazoles, ornidazole.
MOBILUNCUS : nitroimidazoles.
VEILLONELLA : macrolides (bas niveau), glycopeptides.

---

[1] La résistance naturelle peut s'exprimer faiblement et se traduire par des CMI proches de la valeur critique basse. Cette résistance naturelle doit aussi être prise en compte pour la lecture interprétative.

CONTROLE DE QUALITE INTERNE

Un contrôle de qualité interne doit être organisé pour s'assurer de la validité des résultats obtenus. Les souches de référence recommandées sont les suivantes : *Escherichia coli* CIP 7624 (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* CIP 76110 (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* CIP 7625 (ATCC 25923), *Providencia stuartii* CIP 107808, *Streptococcus pneumoniae* CIP 104485.

Note : CLSI est une marque utilisée, déposée et/ou enregistrée appartenant à Clinical and Laboratory Standards Institute Inc. ATCC est une marque utilisée, déposée et/ou enregistrée appartenant à American Type Culture Collection

Tableau II - Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose (moyennes + 1 écart-type calculés sur 400 tests)

Antibiotique	**Charge**	***Escherichia coli* CIP 7624**	***Pseudomonas aeruginosa* CIP 76110**	***Staphylococcus aureus* CIP 7625**	***Providencia stuartii* CIP 107808**
Pénicilline G	6 µg (10 UI)	-	-	31,0 – 38,5	-
Oxacilline	5 µg	-	-	27,0 – 34,0	-
Amoxicilline	25 µg	22,0 – 26,5	-	-	6,0 – 7,0
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	22,0 – 27,0	-	-	6,0 – 8,0
Ticarcilline	75 µg	-	25,0 – 30,5	-	-
Pipéracilline	75 µg	-	27,5 – 32,5	-	-
Céfalotine	30 µg	18,0 – 23,0	-	-	6,0 – 6,5
Céfoxitine	30 µg	-	-	28 - 35	-
Céfotaxime	30 µg	32,5 – 37,5	-	-	25,0 – 32,0
Ceftazidime	30 µg	-	25,5 – 31,5	-	-
Imipénème	10 µg	-	24,5 – 29,5	-	-
Gentamicine	15 µg (10 UI)	22,0 – 26,5	15,5 – 22,5	24,0 – 28,5	13,0 – 17,0
Tobramycine	10 µg	-	20,5 – 26,5	-	-
Amikacine	30 µg	21,5 – 26,0	20,0 – 26,0	-	24,5 – 29,0
Acide nalidixique	30 µg	25,5 – 30,5	-	-	-
Péfloxacine	5 µg	29,0 – 35,5	-	25,5 – 29,5	6,0 – 7,5
Ciprofloxacine	5 µg	31,0 – 38,0	29,0 – 36,5	-	17,5 – 22,5
Triméthoprime/sulfaméthoxazole (cotrimoxazole)	1,25/23,75 µg	25,5 – 30, 5	-	28,0 – 32,5	-
Erythromycine	15 UI	-	-	26,5 – 31,5	-
Lincomycine	15 µg	-	-	24,5 – 29,5	-
Pristinamycine	15 µg	-	-	26,5 – 32,0	-
Rifampicine	30 µg	-	-	34,0 – 39,0	-
Acide fusidique	10 µg	-	-	28,5 – 34,5	-
Fosfomycine	50 µg	-	-	24,0 – 35,0	-
Colistine	50 µg	-	17,0 – 22,0	-	-
Vancomycine	30 µg	-	-	17,5 – 20,5	-
Teicoplanine	30 µg	-	-	17,0 – 20,0	-

Tableau II bis : Limites acceptables des CMI (mg/L) des bêta-lactamines chez Streptococcus pneumoniae CIP 104485 (résultats de 15 observatoires régionaux)

Antibiotiques	
Pénicilline G Amoxicilline Céfotaxime	0,125 – 0,5 mg/L 0,03 – 0,125 mg/L 0,03 – 0,25 mg/L

ANTIBIOTIQUES A ETUDIER PAR ESPECE OU GROUPE BACTERIEN

(Selon les recommandations 2010 du CA-SFM)

Chaque molécule (ou son équivalent) est représentative d'une classe d'antibiotiques. Deux listes distinctes (ne préjugeant pas de la technique utilisée) sont présentées :

- ***Liste standard*** : Cette liste comprend les antibiotiques nécessaires à l'orientation thérapeutique, en fonction des indications cliniques et de la prévalence de la résistance acquise.
- ***Liste complémentaire*** : Cette liste comprend les antibiotiques plus spécifiquement utilisés vis-à-vis des souches multirésistantes, la surveillance épidémiologique de la résistance ou l'aide à l'interprétation des résultats de l'antibiogramme.

Il n'est pas utile de tester en routine d'autres molécules que celles mentionnées dans les listes standard et complémentaire par espèce ou groupe bactérien, mais le choix des antibiotiques de la liste standard peut être adapté par chaque laboratoire en fonction des schémas thérapeutiques de première intention retenus par le Comité du Médicament ou des données épidémiologiques locales.

Le ***tableau VI*** (de la page suivante) permet d'élaborer une première liste d'antibiotiques parmi ceux référencés dans le laboratoire du lycée en fonction de l'espèce et/ou du groupe bactérien isolé.

Le lieu de l'infection, le contexte de l'analyse ainsi que certains renseignements cliniques devront être pris en compte (le cas échéant) pour élaborer la liste définitive des antibiotiques à tester.

Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications

Tableau VI

Famille / groupe d'antibiotique		Dénomination commune	Charge du disque	Sigle du disque	*Enterobacteriaceae*	*Pseudomonas aeruginosa*	Liste commune aux bacilles à Gram négatif non fermentaires *Acinetobacter spp, S. maltophilia, Burkholderia cepacia*	*Staphylococcus spp*	*Enterococcus spp*	*S .pneumoniae*	*Streptococcus spp*	*Haemophilus spp*	*Neisseria meningitidis*	*Neisseria gonorrhoeae*	*Campylobacter*	Anaérobies strictes
Bêta-lactamines	Pénicilline G	**Pénicilline**	6 µg	P				**S**		**S**	**S**		**S**	**S I**		
	Pénicilline M	**Oxacilline**	5 µg	OX				**S**	C I	**S I**	**S I**		**S**			
	Amino-pénicillines	**Ampicilline**	10 µg	AM	**S**				**S**	**S**	**S**	**S I**			**S**	
		Amoxicilline	25 µg	AMX	**S**					**S**	**S**	**S**	**S**	**S I**		**S**
		Amoxicilline-ac.clavulanique	20 + 10 µg	AMC	**S**							**S**			**S**	**S**
	Carboxy-pénicilline	Ticarcilline	75 µg	TIC	C	**S**	**S**									C
		Ticarcilline-ac. clavulanique	75 + 10 µg	TCC	C	C	**S**									C
	Uréidopénicilline	**Pipéracilline**	75 µg	PIP	C	**S**	**S**									C
		Pipéracilline-tazobactam	75 + 10 µg	TZP	C	C	**S**									C
	Carbapenem	**Imipénème**	10 µg	IPM	C	**S**	**S**									**S**
	Monobactame	**Aztréonam**	30 µg	ATM	C	**S**										
	Céphalosporines	**Céfalotine (C1G)**	30 µg	CF	**S**							**S**			C I	
		Céfoxitine (C2G)	30 µg	FOX	C			**S I**								C
		Céfotaxime (C3G)	30 µg	CTX	**S**					**S**			C		C	C
		Ceftazidime (C3G)	30 µg	CAZ	C	**S**	**S**									
Aminosides		**Streptomycine**	10 UI	S				C							C	
		Streptomycine	500 µg	STR					C	C	C					
		Spectinomycine	100 µg	SPT										**S**		
		Kanamycine	30 UI	K	C			C				C			C	
		Kanamycine	1000 µg	KAN					C	C	C					
		Gentamicine	15 µg	GM	**S**	**S**	**S**	**S**				C			**S**	
		Gentamicine	500 µg	GEN					**S**	**S**	**S**					
		Tobramycine	10 µg	TM	C	**S**	**S**	C								
		Nétilmicine	30 µg	NET	C	C	C									
		Amikacine	30 µg	AN	**S**	**S**	**S**									
Phenicoles		**Chloramphénicol**	30 µg	C	C		C	C	C	C	C	C	**S**	C	C	**S**
Tétracyclines		**Tétracycline**	30 UI	TE	C		C	C	C	**S**	**S**	**S**		**S**	**S**	
Macro -lides	Macrolides	**Erythromycine**	15 UI	E				**S**	C	**S**	**S**				**S**	
	Lincosamides	**Lincomycine**	15 µg	L				**S**	C I	**S**	**S**					
	Streptogramines	**Pristinamycine**	15 µg	PT				**S**	C I	**S**	**S**					C
Quinolones		**Acide nalidixique**	30 µg	NA	**S**							**S**		**S**	C I	
		Norfloxacine	5 µg	NOR	**S**					**S I**						
		Ciprofloxacine	5 µg	CIP	**S**	**S**	**S**	**S**	C I	**S**	C	C	**S**	C	**S**	
		Ofloxacine	5 µg	OFX	C			**S**	C I	**S**	C	C		C		C I
Polypeptides		Colistine	50 µg	Cs	C	**S**	I									C I
Glycopeptides		**Vancomycine**	30 µg	VA				**S**	**S**	**S**	C					**S**
Divers		Rifampicine	30 µg	RA				**S**	C	C	C	C	**S**			C
		Nitrofurane	300 µg	FT	**S**			C	**S**							
		Fosfomycine	50 µg	FOS	**S**	C		**S**		C						
		Métronidazole	4 µg	MTR												
Sulfamides et association		**Cotrimoxazole (trimé. + sulfa.)**	1,25 -23,75	SXT	**S**		**S**	**S**	C	C	C	**S**				
		Sulfamides	200 µg	SSS	C	C		C								

LEGENDE : les **noms d'antibiotiques en gras** correspondent à ceux couramment utilisés au **laboratoire du lycée ; une case noircie** marque un antibiotique nécessaires à l'orientation thérapeutique en fonction de différents contextes épidémio-cliniques **; la lettre S** ⇔ antibiogramme **standard** ; **la lettre C** ⇔ test **complémentaire ; la lettre I** ⇔**Information** : aide à la lecture interprétative et/ou l'identification, indications dans les tableaux VII et suivants.

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR ENTEROBACTERIACEAE

Tableau VII

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques mg/L		Diamètres critiques mm		Remarques
		cci	ccs	D	d	
Ampicilline	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 19	< 16	Interprétation valable pour bacampicilline, pivampicilline. Cf. règles (1) et (2)
Amoxicilline	25 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 16	Cf. règles (1) et (2)
Ampicilline/sulbactam	10/10 µg	≤ 4/8	> 8/8	≥ 19	< 16	Cf. règle (1b).
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 4/2	> 8/2	≥ 21	< 16	Cf. règle (1b).
Ticarcilline	75 µg	≤ 8	16	≥ 24	< 22	Interprétation valable pour un traitement intraveineux. Cf. règles (1), (2) et (3).
Ticarcilline/ac. clavulanique	75/10 µg	≤ 8/2	> 16/2	≥ 24	< 22	
Pipéracilline	75 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 16	Interprétation valable pour un traitement intraveineux. Cf. règles (1), (2) et (3).
Pipéracilline/tazobactam	75/10 µg	≤ 8/4	> 16/4	≥ 21	< 17	
Mécillinam	10 µg	≤ 8	> 8	≥ 24	< 22	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines
Imipénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17	
Méropénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15	
Ertapénème	10 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 28	< 26	Déterminer la CMI en cas de résistance par diffusion à l'ertapénème avec sensibilité à l'imipénème
Doripénème	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19	
Aztréonam	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 27	< 21	Cf. règles (4) et (5).
Céfalotine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12	Interprétation valable pour les céphalosporines injectables de 1ère génération (céfapirine, céfazoline). Interprétation également valable pour les céphèmes orales de 1ère génération (céfadroxil, céfalexine, céfradine, céfaclor, cefatrizine, loracarbef) mais uniquement pour les souches isolées des urines.
Céfuroxime	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 22	< 22	
Céfamandole	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15	
Céfoxitine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15	
Céfotétan	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 23	< 17	
Latamoxef	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 23	< 17	Non commercialisé en France
Céfotaxime	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23	Pour les 6 céphalosporines de ce groupe cf. règles (4) et (5)
Ceftriaxone	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23	
Ceftazidime	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 26	< 19	
Céfépime	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 24	< 17	
Cefpirome	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 24	< 17	
Céfixime	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 25	< 22	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines
Kanamycine	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Interprétation valable pour néomycine, framycétine, paromomycine
Tobramycine	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf. règles (6), (9) et (11).
Amikacine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Cf. règles (6) et (7).
Isépamicine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Cf. règles (6) et (7).
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf. règles (6), (8) et (11)
Nétilmicine	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 21	< 19	Cf. règles (6), (10) et (11)
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 23	< 23	Interprétation valable pour thiamphénicol.
Tétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	Interprétation valable pour les autres tétracyclines, sauf la minocycline.
Minocycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	
Tigécycline	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 21	< 19	En cas d'utilisation thérapeutique, il y a lieu de déterminer la CMI pour les diamètres de 19 et 20 mm.
Colistine	50 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15	Les diamètres ont pour but de vérifier la résistance naturelle de certaines espèces, mais ne permettent pas de détecter toutes les résistances acquises ce qui impose de déterminer la CMI en cas d'utilisation thérapeutique. Interprétation valable pour polymyxine B

Tableau VII (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques mg/L		Diamètres critiques mm		Remarques
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Sulfamides	200 µg	≤ 64	> 256	≥ 17	< 12	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Triméthoprime	5 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 16	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Triméthoprime/sulfaméthoxa-zole	1,25 / 23,75 µg	≤ 2/38	> 4/76	≥ 16	< 13	Interprétation valable pour les autres associations triméthoprime-sulfamide.
Nitrofuranes	300 µg	≤ 64	> 64	≥ 15	< 15	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines
Acide oxolinique	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 17	Il est justifié de fournir une réponse globale pour l'ensemble du groupe des quinolones classiques (parfois appelées de première génération) en n'étudiant qu'un seul représentant de ce groupe. Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Fluméquine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 25	< 21	
Acide nalidixique	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 15	
Acide pipémidique	20 µg	≤ 8	> 16	≥ 19	< 14	
Acide piromidique	25 µg	≤ 16	> 32	≥ 20	< 16	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	La résistance aux fluoroquinolones est croisée entre les différentes molécules mais son niveau d'expression peut varier pours chaque molécule. Les souches d'entérobactéries sensibles à la norfloxacine (NOR) sont sensibles aux autres fluoroquinolones. Pour les souches I (ou R) à NOR, des différences d'activité intrinsèque impliquent un test et une réponse indépendante pour les autres molécules
Enoxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	
Lévofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 17	
Loméfloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	
Moxifloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 24	< 21	
Norfloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	
Ofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	
Péfloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16	
Fosfomycine	50 µg + 50 µg G6P	≤ 32	> 32	≥ 14	< 14	La résistance acquise à la fosfomycine est homogène. La présence de colonies dans la zone d'inhibition ne doit pas être prise en compte. Interprétation valable pour la fosfomycine-trométamol
Azithromycine		≤ 16				Valable pour *Salmonella* sérotype Typhimurium et *Shigella* spp.

Règles de lecture interprétativepour le tableau VII

(1) Interpréter I les résultats S (faible expression de la résistance naturelle) dans les cas suivants :

a – *Klebsiella pneumoniae, Klebsiella oxytoca, Citrobacter diversus et Escherichia hermannii*, S aux amino- et/ou aux carboxy- et/ou aux uréido-pénicillines.

b – *Enterobacter cloacae, Enterobacter aerogenes, Citrobacter freundii, Serratia marcescens, Morganella morganii, Providencia rettgeri, Providencia stuartii et Hafnia alvei*, S aux amino-pénicillines et/ou aux céphalosporines de première génération et/ou à l'association amoxicilline + acide clavulanique et ampicilline + sulbactam.

c – *Proteus vulgaris et Proteus penneri*, S aux amino-pénicillines et/ou aux céphalosporines de première génération.

(2) Interpréter I un résultat S aux carboxy- et/ou aux uréido-pénicillines chez *Proteus mirabilis* R aux amino-pénicillines.

(3) Interpréter I un résultat S aux uréido-pénicillines chez toute entérobactérie I ou R aux carboxy-pénicillines.

(4) Interpréter I un résultat S à toutes les céphalosporines sauf céfépime et cefpirome si la souche est catégorisée I ou R à céfotaxime et/ou ceftriaxone et/ou ceftazidime et/ou aztréonam en l'absence de synergie entre ces molécules et l'acide clavulanique (en pratique : disque d'amoxicilline + acide clavulanique = AMC). Ce phénotype est évocateur d'une céphalosporinase chromosomique hyperproduite (entérobactérie du groupe III et *E. coli*) ou d'une céphalosporinase plasmidique (toutes espèces d'entérobactéries).
La réalisation d'un antibiogramme standard sur gélose Mueller-Hinton additionnée de 250 mg/L de cloxacilline (inhibiteur de céphalosporinases) permet de vérifier que la résistance observée est bien liée à ce type de mécanisme (restauration de la sensibilité aux molécules précitées en l'absence de tout autre mécanisme de résistance aux b-lactamines) et de détecter une éventuelle b-lactamase à spectre élargi associée qui aurait été masquée par une hyperproduction de céphalosporinase (voir remarque 5a).

(5) Interpréter I un résultat S à toutes les céphalosporines sauf les céphamycines (céfoxitine et céfotétan) et à l'aztréonam en présence d'une synergie significative entre au moins l'une des céphalosporines de 3ème génération (C3G) ou l'aztréonam et AMC. Ce phénotype est évocateur d'une b-lactamase à spectre élargi (BLSE).

a) Cette synergie significative (typiquement "en bouchon de champagne") est habituellement visible sur l'antibiogramme standard où les disques sont distants de 30 mm (centre à centre).

Toutefois, chez les souches résistantes à haut niveau aux b-lactamines (souches cumulant plusieurs mécanismes de résistance, dont l'hyperproduction de céphalosporinase), la détection d'une BLSE est facilitée par la recherche d'une synergie entre des disques de céfépime ou cefpirome et d'AMC, que l'on peut rapprocher, et/ou la réalisation d'un antibiogramme standard (comprenant éventuellement des disques de C3G + AMC, voir remarque 5d) sur gélose Mueller- Hinton additionnée de 250 mg/L de cloxacilline.

Chez certaines espèces intrinsèquement très sensibles aux b-lactamines (*P. mirabilis, P. vulgaris, P. penneri, P. stuartii et P. rettgeri*), les BLSE s'expriment à bas niveau. Leur détection est facilitée par la recherche d'une synergie entre les C3G ou l'aztréonam et AMC avec des disques placés à une distance de 40-45 mm, ou comme indiqué dans la remarque 5b.

b) La présence d'une BLSE peut être confirmée en quantifiant la synergie soit par un antibiogramme comportant des disques de céfotaxime, ceftazidime et céfépime simples et combinés à l'acide clavulanique, soit par la mesure de la CMI de ces molécules testées seules ou associées à l'acide clavulanique. Une synergie significative est définie comme l'augmentation de 5 mm du diamètre de la zone d'inhibition ou la diminution d'au moins 3 dilutions de la CMI en présence d'acide clavulanique. Cette synergie significative témoigne de la présence de BLSE et permet de distinguer ces enzymes de certaines pénicillinases plasmidiques (OXA-1/30, SHV-1). Une synergie non significative exclut a priori la présence d'une BLSE et la lecture interprétative associée à ce mécanisme.

c) Chez *K. oxytoca*, un test de synergie positif (image "en entonnoir") avec l'aztréonam et/ou la ceftriaxone, mais négatif avec la ceftazidime, évoque une hyperproduction de la b-lactamase naturelle chromosomique. Interpréter I les seuls résultats S associés à une synergie.

d) Chez *P. vulgaris et P. penneri*, un test de synergie positif évoque une hyperproduction de la b-lactamase naturelle chromosomique et beaucoup plus rarement la présence d'une BLSE, surtout s'il n'y a pas de résistance acquise aux autres familles d'antibiotiques

Abréviations : gentamicine (G), tobramycine (T), nétilmicine (Nt), amikacine (A), isépamicine (Is)

(6) Se conformer aux diamètres critiques de chaque molécule pour l'interprétation si une diminution des diamètres d'inhibition (< 20 mm) est observée pour l'ensemble des aminosides ; elle évoque une perméabilité diminuée.

(7) Interpréter $A^{I}Is^{I}$ un résultat GS et $T^{I/R}$ $Nt^{I/R}$ et $A^{S/I}$ $Is^{S/I}$, évoquant la production d'une AAC(6'), (cf. également note 5).

(8) Interpréter G^{I} un résultat G^{S} si une diminution du diamètre d'inhibition (16 à 19 mm) de la seule gentamicine, évoquant la production d'une AAC (3)-I, est observée.

(9) Interpréter T^{I} un résultat T^{S} si une diminution du diamètre d'inhibition (16 à 19 mm) de la tobramycine est observée avec un résultat $G^{I/R}$. Ceci évoque la production d'une ANT (2'').

(10) Interpréter Nt^{I} un résultat Nt^{S} si une diminution du diamètre d'inhibition (19 à 22 mm) de la nétilmicine est observée avec un résultat $G^{I/R}$ $T^{I/R}$. Ceci évoque la production d'une AAC(3)-II ou d'une AAC(3)-IV.

(11) Chez *Providencia* spp., après vérification de l'identification, interpréter G^{I} T^{I} Nt^{I} un résultat G^{S} T^{S} et Nt^{S} (résistance naturelle par production d'une AAC (2')-I).

IMPORTANT : Les phénotypes G^{R} T^{S} Nt^{R} A^{S}, G^{S} T^{R} Nt^{R} A^{S}, G^{S} T^{S} Nt^{R} A^{R} et G^{S} T^{R} Nt^{S} A^{R} demeurent improbables. Vérifier l'identification et l'antibiogramme, ainsi que l'interprétation.

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Tableau VIII

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques mg/L		Diamètres critiques mm		Remarques
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Ticarcilline	75 µg	≤ 16	> 16	≥ 22	< 22	Cf. règles (1) à (4).
Ticarcilline/ac. clavulanique	75/10 µg	≤ 16/2	> 16/2	≥ 22	< 22	
Pipéracilline	75 µg	≤ 16	> 16	≥ 18	< 18	
Pipéracilline/tazobactam	75/10 µg	≤ 16/4	> 16/4	≥ 19	< 19	
Imipénème	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 22	< 17	Une résistance isolée aux carbapénèmes correspond à une imperméabilitésélective associée à une hydrolyse par la céphalosporinase constitutive de l'espèce. Cette résistance n'est pas croisée avec les autres bêta-lactamines.
Méropénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15	
Doripénème	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19	
Aztréonam	30 µg	≤ 1	> 16	≥ 27	< 19	Cf. règles (3) à (5).
Ceftazidime	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 19	< 19	Cf. règles (1) à (5).
Céfépime	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 19	< 19	
Cefpirome	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 19	< 19	
Tobramycine	10 µg	≤ 4	> 4	≥ 16	< 16	Cf. règles (6) et (7).
Amikacine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	
Isépamicine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 4	> 4	≥ 16	< 16	
Nétilmicine	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 19	< 19	
Colistine	50 µg	≤ 2	> 2			En raison de l'absence de corrélation CMI/diamètre, il y a lieu de déterminer la CMI de la colistine en cas d'utilisation thérapeutique (souche multirésistante). Interprétation valable pour polymyxine B.
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	
Rifampicine	30 µg	≤ 4	> 16	≥ 19	< 14	
Fosfomycine	50 µg + 50 µg G6P	≤ 32	> 32	≥ 14	< 14	La résistance acquise à la fosfomycine est homogène. La présence de colonies dans la zone d'inhibition ne doit pas être prise en compte
Sulfamides	200 µg	≤ 64	> 256	≥ 17	< 12	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines

Règles de lecture interprétative du tableau VIII

Abréviations : TIC, ticarcilline ; TCC, ticarcilline + acide clavulanique ; PIP, pipéracilline ; PTZ, pipéracilline + tazobactam ; AZL, azlocilline ; IPM, imipénème ; ATM, aztréonam ; CFZ, céfopérazone ; CFS, cefsulodine ; CPO, cefpirome ; FEP, céfépime ; CAZ, ceftazidime.

(1) Interpréter I un résultat S à TCC, PIP, PTZ, AZL, CFZ, CFS si une résistance à haut niveau (CMI > 256 mg/l, disque contact) à TIC est mise en évidence.

(2) Un résultat TIC ^{S} TCC $^{I/R}$ est en relation avec une céphalosporinase inductible ; il n'y a pas lieu de changer la catégorisation de la ticarcilline.

(3) Interpréter I un résultat S à TIC, TCC, PTZ, CFZ, CFS, CPO, ATM si un phénotype PIP $^{I/R}$ CAZ $^{I/R}$ et TIC ^{S} est mis en évidence.

(4) Un résultat TIC $^{I/R}$ TCC $^{I/R}$ et/ou ATM $^{I/R}$ avec une sensibilité conservée aux autres b-lactamines du tableau ci-dessus évoque une résistance par efflux. Etant donné l'absence de données sur les conséquences cliniques, il n'y a pas lieu de changer les catégorisations.

(5) Une synergie entre TCC et ATM et/ou CAZ et/ou FEP et/ou CPO permet la détection de certaines b-lactamases à spectre étendu (BLSE).

Abréviations : G, gentamicine ; T, tobramycine ; Nt, nétilmicine ; A, amikacine ; Is, isépamicine.

(6)- Se conformer aux diamètres critiques de chaque molécule pour l'interprétation, si une diminution des diamètres d'inhibition (< 20 mm), évoquant une résistance non enzymatique, est observée pour l'ensemble des aminoglycosides.

(7) - Interpréter A ^{I} Is ^{I} un résultat A ^{S} Is ^{S} et G ^{S} et T $^{I/R}$ Nt $^{I/R}$ évoquant la production d'une AAC (6')-I.

Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR *ACINETOBACTER* SPP., *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* ET *BURKHOLDERIA CEPACIA*.

Tableau IX

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques mg/L		Diamètres critiques mm		Remarques
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Sulbactam (H)		≤ 8	-			Activité antibactérienne propre à évaluer par détermination de la CMI pour Acinetobacter spp. et B. cepacia.
Ticarcilline (H)	75 µg	≤ 16	> 64	≥ 22	< 18	Pour *Acinetobacter* spp.
Ticarcilline/ac. clavulanique (H)	75/10 µg	≤ 16/2	> 64/2	≥ 22	< 18	Pour *Acinetobacter* spp. et *S. maltophilia*.
Pipéracilline (H)	75 µg	≤ 16	> 64	≥ 18	< 12	Pour *Acinetobacter* spp. et *B. cepacia*.
Pipéracilline/tazobactam (H)	75/10 µg	≤ 16/4	> 64/4	≥ 19	< 14	Pour *Acinetobacter* spp.
Imipénème (H)	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17	
Méropénème (H)	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15	
Doripénème (H)	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19	
Ceftazidime (H)	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 19	Synergie possible sulbactam + ceftazidime pour *Acinetobacter* spp.
Céfépime (H)	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 19	Synergie possible sulbactam + céfépime pour *Acinetobacter* spp.
Cefpirome (H)	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 19	Synergie possible sulbactam + cefpirome pour *Acinetobacter* spp.
Tobramycine	10 µg	≤ 4	> 4	≥ 16	< 16	Pour *Acinetobacter* spp.
Amikacine (H)	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Pour *Acinetobacter* spp.
Isépamicine (H)	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Pour *Acinetobacter* spp.
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 4	> 4	≥ 16	< 16	Pour *Acinetobacter* spp.
Nétilmicine	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 19	< 19	Pour *Acinetobacter* spp
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 23	< 19	Interprétation valable pour thiamphénicol.
Tétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	Pour *S. maltophilia* et *B. cepacia*
Colistine	50 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15	Les diamètres ont pour but de vérifier la résistance naturelle de certaines espèces, mais ne permettent pas de détecter toutes les résistances acquises ce qui impose de déterminer la CMI en cas d'utilisation thérapeutique (souche multirésistante). Interprétation valable pour polymyxine B.
Péfloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16	La résistance aux fluoroquinolones est croisée entre les différentes molécules mais son niveau d'expression peut varier pour chaque molécule.
Ofloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	
Lévofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 17	
Rifampicine	30 µg	≤ 4	> 16	≥ 19	< 14	Pour *Acinetobacter* spp. et *S. maltophilia*
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	1,25/23,7 5 µg					Interprétation valable uniquement pour les autres associations triméthoprimesulfamide.
- *S. maltophilia*		≤ 4/76	> 4/76	≥ 13	< 13	
- Autres espèces		≤ 2/38	> 4/76	≥ 16	< 13	

Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR *STAPHYLOCOCCUS* SPP.

Tableau X

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques mg/L		Diamètres critiques mm		Remarques
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Pénicilline G	6 µg (10 UI)	≤ 0,12	> 0,12			Vérifier l'absence de production de pénicillinase par une technique chromogénique. Les souches productrices de pénicillinase sont résistantes à la pénicilline G (CMI > 0,12 mg/L), à la phénoxyméthyl-pénicilline et aux autres pénicillines hydrolysables (amino-, carboxy- et uréido-pénicillines).
Oxacilline	5 µg	≤ 2 ≤ 0,25	> 2 > 2	≥ 20	< 20	Pour *S. aureus* (voir la remarque « cas particulier » ci-dessous sur les conditions techniques de réalisation) Pour les staphylocoques à coagulase-négative. L'expression d'une PLP2a après induction par une bêta-lactamine ou la présence d'un gène mecA doit être recherchée pour les souches catégorisées intermédiaires par les CMI de l'oxacilline. Des souches appartenant aux espèces *S. saprophyticus* et *S. lugdunensis* présentent fréquemment des valeurs intermédiaires alors qu'elles ne possèdent pas le gène mecA ou n'expriment pas de PLP2a. Ces souches sont considérées comme sensibles aux isoxazolyl-pénicillines.
Cas particulier : Pour *Staphylococcus aureus* et pour l'oxacilline, diluer la suspension inoculum au 1/10 (~ 10^7 UFC/ml) et incuber à 30°C sur milieu non supplémenté en chlorure de sodium ou à 37°C sur milieu hypersalé (2 à 4%). Prolonger éventuellement l'incubation jusqu'à 48 h si la croissance apparaît faible après 24 h.						
Céfoxitine Moxalactam	30 µg 30 µg			≥ 27 ≥ 24	< 25 < 23	1. La résistance des staphylocoques aux isoxazolyl-pénicillines (oxacilline, cloxacilline) est recherchée à l'aide d'un disque de céfoxitine (30 µg) ou de moxalactam (30 µg) dans les conditions standards de l'antibiogramme des staphylocoques (en milieu de Mueller-Hinton avec un inoculum ~ 10^6 UFC/ml et incubation 18-24 h). Il ne doit pas être tenu compte d'une éventuelle zone fantôme pour la lecture des diamètres d'inhibition de la céfoxitine. Les souches présentant un diamètre supérieur ou égal à 27 mm (céfoxitine) ou 24 mm (moxalactam) sont sensibles aux isoxazolyl-pénicillines. Les souches présentant un diamètre inférieur à 25 mm (céfoxitine) ou 23 mm (moxalactam) sont résistantes. Pour les souches présentant un diamètre compris entre ces bornes, l'expression d'une PLP2a après induction par une bêta-lactamine ou la présence d'un gène mecA doit être recherchée par une technique appropriée. Des souches de *S. saprophyticus* et *S. lugdunensis* présentent des valeurs inférieures à la borne basse pour les diamètres de la céfoxitine ou du moxalactam. Le gène mecA ou la PLP2a sont à rechercher pour ces souches. En cas de négativité, ells sont considérées comme sensibles aux isoxazolyl-pénicillines. 2. Les souches de staphylocoques résistantes à la céfoxitine, au moxalactam ou à l'oxacilline ou possédant le gène mecA ou exprimant la PLP2a, après induction par une bêta-lactamine doivent être interprétées résistantes à toutes les bêta-lactamines : pénicillines (associées ou non à un inhibiteur de bêta-lactamase), céphalosporines et carbapénèmes. 3. De rares staphylocoques à coagulase négative possédant le gène mecA ne sont pas identifiés comme résistants à la méticilline par les tests à la céfoxitine (environ 4% des cas) et au moxalactam (1%). Il est donc recommandé de vérifier l'absence du gène mecA ou de la PLP2a devant toute infection sévère à staphylocoque à coagulase-négative. 4. Les souches pénicilline R – oxacilline S sont sensibles aux isoxazolyl-pénicillines, aux pénicillines associées à un inhibiteur de bêta-lactamase, aux céphalosporines et aux carbapénèmes. Ces molécules sont utilisables dans les limites de l'AMM. Il est inutile de les tester en routine. 5. Les staphylocoques résistants à la méticilline sont souvent résistants à de multiples familles d'antibiotiques; cependant, certaines souches ont une résistance isolée à l'oxacilline.

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR *STAPHYLOCOCCUS* SPP.

Tableau X

Antibiotiques	**Charge du disque**	**Concentrations critiques mg/L**		**Diamètres critiques mm**		**Remarques**
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Streptomycine	10 UI	≤ 8	> 16	≥ 15	< 13	
Kanamycine	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Interprétation valable pour néomycine, framycétine, paromomycine, amikacine et isépamicine.
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 1	> 1	≥ 20	< 20	Interprétation valable pour nétilmicine. Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à l'ensemble des aminoglycosides (sauf streptomycine).
Tobramycine	10 µg	≤ 1	> 1	≥ 20	< 20	
Erythromycine	15 UI	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	Interprétation valable pour azithromycine, clarithromycine, dirithromycine et roxithromycine.
Spiramycine	100 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19	Interprétation valable pour josamycine et midécamycine.
Lincomycine	15 µg	≤ 2	> 8	≥ 21	< 17	Interprétation valable pour clindamycine. Devant une souche résistante à l'érythromycine et sensible à lincomycine et clindamycine, rechercher le caractère inductible de cette résistance (antagonisme érythromycinelincomycine). En l'absence d'induction, répondre sensible à la lincomycine et clindamycine. En présence d'induction, répondre sensible à lincomycine et clindamycine avec le message suivant : de rares échecs cliniques ont été rapportés par sélection de mutants constitutifs résistants.
Clindamycine		≤ 0,25	> 0,5			En cas de résistance à la clindamycine, les activités de la pristinamycine et de l'association quinupristine-dalfopristine sont diminuées.
Pristinamycine	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	
Quinupristine-dalfopristine	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	Pour les souches dont le diamètre est 19 ≤ Ø < 22 mm, déterminer la CMI.
Linézolide	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 24	< 24	
Mupirocine	5 µg	≤ 2	-	≥ 19	-	
Péfloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16	Péfloxacine, ofloxacine, lévofloxacine et ciprofloxacine ont une activité similaire sur les staphylocoques. La résistance est croisée entre ces molécules et le résultat obtenu en testant l'une d'entre elles est valable pour les autres. En cas de résistance à l'une de ces molécules, il existe un risque élevé de selection in vivo de mutants résistants et d'échec clinique pour les molécules encore actives.
Ofloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16	
Lévofloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 20	< 15	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	
Moxifloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 24	< 21	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 23	< 23	Interprétation valable pour thiamphénicol
Tétracycline	30 UI	≤ 1	> 2	≥ 23	< 21	Interprétation valable pour les autres tétracyclines, sauf la minocycline et la tigécycline
Minocycline	30 UI	≤ 0,5	> 1	≥ 23	< 21	
Tigécycline	15 µg	≤ 0,5	> 0,5	≥ 22	< 22	
Rifampicine	30 µg	≤ 0,06	> 0,5	≥ 29	< 24	
Fosfomycine	50 µg	≤ 32	> 32	≥ 14	< 14	La résistance acquise à la fosfomycine est homogène. La présence de colonies dans la zone d'inhibition ne doit pas être prise en compte.
Acide fusidique	10 µg	≤ 1	> 1	≥ 24	< 24	
Teicoplanine (H)	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17		Cf. la remarque ci-dessous pour la détection des souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides.
Vancomycine (H)	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17		
Daptomycine	-	≤ 1	> 1	-	-	
Sulfamides	200 µg	≤ 64	> 256	≥ 17	< 12	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Triméthoprime	5 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 16	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	1,25+23,75 µg	≤ 2/38	> 4/76	≥ 16	< 13	Interprétation valable pour les autres associations triméthoprime-sulfamide.
Notrofuranes	300 µg	≤ 64	> 64	≥ 15	< 15	

DETERMINATION DE L'ACTIVITE IN VITRO DES GLYCOPEPTIDES SUR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* :

Catégorisation clinique des souches suspectées d'être de sensibilité diminuée.

Introduction

Des souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA, GRSA, Hetero-VISA* des anglosaxons) ont été décrites depuis plusieurs années. En France, cette sensibilité diminuée concerne presque exclusivement les souches simultanément résistantes à la méticilline et à la gentamicine.

Critères de suspicion de la sensibilité diminuée aux glycopeptides

En routine, par la méthode par diffusion en milieu gélosé lorsque,
- le diamètre de la zone d'inhibition est < 17 mm autour du disque de l'un des deux glycopeptides,
- le diamètre de la zone d'inhibition autour d'un disque de teicoplanine est inférieur d'au moins 3 mm à celui de la vancomycine,
- quelques colonies sont présentes dans la zone d'inhibition de l'un des deux glycopeptides,
- il existe un phénomène d'interaction (synergie ou antagonisme) entre l'un des glycopeptides et un disque d'oxacilline à 5 µg.

En routine, par les méthodes automatisées lorsque les souches sont catégorisées I ou R à au moins l'un des glycopeptides.

(*) mise en évidence basée sur une analyse de population non réalisée en routine (voir Chesneau, O., A. Morvan et N. El Solh – J. Antimicrob. Chemother. , 2000, 45, 887-890.) ***par un test particulier*** : la sensibilité diminuée est suspectée par la présence d'au moins quatre colonies sur gélose Mueller-Hinton (MH) additionnée de 5 mg/L de teicoplanine, ensemencée par dépôt de 10 µl d'une suspension de 6.10^8 UFC/ml (McFarland 2), après incubation à 35-37°C et lecture à 24 et 48 heures. Il est nécessaire d'inclure dans chaque série de tests un témoin négatif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et un témoin positif (*Staphylococcus haemolyticus* CIP 107204). Cette dernière souche ne peut pas être utilisée pour le contrôle de qualité de la méthode de dilution car les CMI de teicoplanine varient de 2 à 8 mg/L selon le lot de milieu de Mueller-Hinton utilisé.

Remarque : la gélose coeur-cervelle (BHI agar) additionnée de 6 mg/L de teicoplanine et ensemencée par dépôt de 10 µl d'une suspension de 10^8UFC/ml (McFarland 0,5) ne permet pas d'obtenir des résultats reproductibles d'un lot à l'autre.

Catégorisation

Pour les souches suspectes d'être de sensibilité diminuée aux glycopeptides, seule la détermination des CMI de la vancomycine et de la teicoplanine dans les conditions décrites dans ce communiqué annuel (Voir Méthodologie de réalisation de l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé) permet leur catégorisation clinique (S,I,R) selon les concentrations critiques indiquées ci-dessus.

Les CMI peuvent aussi être déterminées par toute technique ayant démontré, pour ces antibiotiques, son équivalence avec la technique de référence.

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR *ENTEROCOCCUS* SPP

Tableau XI

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques mg/L		Diamètres critiques mm		Remarques
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Ampicilline	10 µg	≤ 4	> 8	≥19	< 16	Pour *E. faecalis*, l'interprétation est valable pour pénicilline G, amoxicilline, uréidopénicillines et carbapénèmes. Le traitement des infections sévères à entérocoques ampicilline S/I nécessite des doses élevées d'une pénicilline associée à un aminoglycoside pour obtenir une activité bactéricide

Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR *ENTEROCOCCUS* SPP

Tableau XI (suite)

Antibiotiques	**Charge du disque**	**Concentrations critiques mg/L**		**Diamètres critiques mm**		**Remarques**
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Streptomycine	500 µg	≤ 250	> 500	≥ 14	< 12	Les entérocoques présentent une résistance naturelle de bas niveau (BNR) à tous les aminoglycosides qui n'empêchent pas d'obtenir un effet synergique bactéricide entre un aminoglycoside et une pénicilline ou un glycopeptide. L'acquisition d'une résistance de haut niveau (HNR) aux aminoglycosides, détectée grâce à des disques fortement chargés en streptomycine (S : 500 µg), kanamycine (K : 1000 µg) et gentamicine (G : 500 µg), abolit cet effet synergique bactéricide **Interprétation des résultats** : S^{BNR}, K^{BNR} et G^{BNR} (Ø≥ D ; CMI ≤ c) : synergie possible avec les pénicillines ou les glycopeptides en cas de sensibilité à ces derniers antibiotiques. S^{HNR} (Ø < d ; CMI > C) : streptomycine ne peut être utilisée. K^{HNR} (Ø < d ; CMI > C) : kanamycine, amikacine et isépamicine ne peuvent être utilisées. G^{HNR} (Ø < d ; CMI > C) : kanamycine, tobramycine, dibékacine, amikacine, gentamicine, sisomicine, nétilmicine et isépamicine ne peuvent être utilisées. Pour les valeurs « intermédiaires » des diamètres, le niveau de résistance devra être confirmé par dilution en agar ou en bouillon contenant 500 µg/mL de S, K ou G. (HNR : CMI > 500 µg/mL). Les combinaisons S^{HNR} + K^{HNR}, K^{HNR} + G^{HNR} et S^{HNR} + K^{HNR} + G^{HNR} sont possibles.
Kanamycine	1000 µg	≤ 250	> 500	≥ 14	< 10	
Gentamicine	500 µg	≤ 128	> 128	≥ 17	< 11	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 23	< 19	Interprétation valable pour thiamphénicol
Tétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	Interprétation valable pour les autres tétracyclines, sauf la minocycline et la tigécycline
Tigécycline	15 µg	≤ 0,25	> 0,5	≥ 22	> 22	
Erythromycine	15 UI	≤ 1	> 4	≥ 22	< 17	Interprétation valable pour azithromycine, clarithromycine, dirithromycine et roxithromycine.
Lincomycine	15 µg	≤ 2	> 8	≥ 21	< 17	Résistance naturelle de *E. faecalis*.
Clindamycine	2 UI	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15	Résistance naturelle de *E. faecalis*
Pristinamycine	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	Spectre limité à *E. faecium*.
Quinupristine – dalfopristine	15 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16	Spectre limité à *E. faecium*
Lévofloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	-	-	
Moxifloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	-	-	
Linézolide	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 24	< 24	
Teicoplanine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17	-	Du fait d'une expression parfois faible ou tardive de la résistance aux glycopeptides des entérocoques, il est recommandé de déterminer les CMI de la vancomycine et de la teicoplanine par la méthode de dilution en gélose ou par toute technique ayant démontré, pour ces antibiotiques, son équivalence avec la technique de référence : − en cas d'échec thérapeutique − lorsque, par la méthode de diffusion en gélose, après 24 heures d'incubation : · le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de l'un des deux glycopeptides est < 17 mm le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de vancomycine est inférieur d'au moins 3 mm à celui autour du disque de teicoplanine quelques colonies sont présentes dans la zone d'inhibition de l'un des deux glycopeptides. − lorsque les souches sont catégorisées I ou R à au moins l'un des deux glycopeptides par les méthodes automatisées. − en cas de culture sur un milieu additionné de vancomycine Il convient aussi de vérifier l'identification, notamment en cas d'infection sévère, *Enterococcus casseliflavus / flavescens et Enterococcus gallinarum* étant naturellement résistants aux glycopeptides.
Vancomycine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17	-	
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	1,25 / 23,75 µg	≤ 0,03 / 0,6	> 1/19	≥ 16	< 10	
Nitrofuranes	300 µg	≤ 64	> 64	≥ 15	< 15	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*.

Tableau XII

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques mg/L		Diamètres critiques mm		Remarques
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Pénicilline G	-	≤ 0,06	> 2	-	-	La détection de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline G est réalisée avec un disque d'oxacilline 5 µg (OXA-5) selon les critères suivants : - diamètre OXA-5 ≥ 26 mm : souche sensible à la pénicilline G et aux autres β-lactamines. - diamètre OXA-5 < 26 mm : souche de sensibilité diminuée. Ce test ne peut pas apprécier le niveau de résistance à la pénicilline G ou aux autres β-lactamines. L'utilisation d'autres disques de β-lactamines ne permet pas de déterminer le niveau de résistance à ces β-lactamines. En conséquence, notamment en cas d'infection sévère, d'échec clinique ou devant toute souche de sensibilité diminuée (OXA-5 < 26 mm), il y a lieu de **déterminer la CMI** d'au moins une des β-lactamines dont les propriétés pharmacodynamiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutique (amoxicilline, céfotaxime, ceftriaxone). La résistance acquise à la pénicilline G est croisée avec toutes les autres β-lactamines mais à des niveaux variables en fonction des antibiotiques permettant l'utilisation des molécules les plus actives. Les souches catégorisées comme intermédiaires (ou résistantes de bas niveau) doivent être considérées comme résistantes en cas de méningite, mais sensibles à fortes doses en cas d'infections respiratoires.
Ampicilline	-	≤ 0,5	> 2	-	-	
Amoxicilline	-	≤ 0,5	> 2	-	-	
Céfuroxime	-	≤ 0,5	> 1	-	-	
Céfuroxime - axétil	-	≤ 0,25	> 0,5	-	-	
Céfuroxime - proxétil	-	≤ 0,25	> 0,5	-	-	
Céfotaxime	-	≤ 0,5	> 2	-	-	
Ceftriaxone	-	≤ 0,5	> 2	-	-	
Céfépime	-	≤ 1	> 2	-	-	
Cefpirome	-	≤ 1	> 2	-	-	
Imipénème	-	≤ 2	-	-	-	
Ertapénème	-	≤ 0,5	-	-	-	
Méropénème	-	≤ 2	-	-	-	
Doripénème	-	*≤ 1*	*> 1*	-	-	
Streptomycine	500 µg	≤ 250	> 500	≥ 14	< 12	*S. pneumoniae* présente une résistance naturelle de bas niveau (BNR) à tous les aminoglycosides qui n'empêche pas d'obtenir un effet synergique bactéricide entre un aminoglycoside et une pénicilline ou un glycopeptide. L'acquisition d'une résistance de haut niveau (HNR) aux aminoglycosides, détectée grâce à des disques fortement chargés en streptomycine (S : 500 µg), kanamycine (K : 1000 µg) et gentamicine (G : 500 µg), abolit cet effet synergique bactéricide. **Interprétation des résultats :** S^{BNR}, K^{BNR} et G^{BNR} (∅ ≥ D ; CMI ≤ c) : synergie possible avec les pénicillines ou les glycopeptides en cas de sensibilité à ces derniers antibiotiques. S^{HNR} (∅ < d ; CMI > C) : streptomycine ne peut être utilisée. K^{HNR} (∅ < d ; CMI > C) : kanamycine, amikacine et isépamicine ne peuvent être utilisées. Pour les valeurs « intermédiaires » des diamètres, le niveau de résistance devra être confirmé par dilution en agar ou en bouillon contenant 500 µg/mL de S, K ou G. (HNR : CMI > 500 µg/mL). La combinaison S^{HNR} + K^{HNR} est possible.
Kanamycine	1000 µg	≤ 250	> 500	≥ 14	< 10	
Gentamicine	500 µg	≤ 250	> 500	≥ 17	< 11	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 23	< 23	Interprétation valable pour thiamphénicol
Tétracycline	30 UI	≤ 1	> 2	*≥ 23*	< 21	Interprétation valable pour les autres tétracyclines
Erythromycine	15 UI	≤ 0,25	> 0,5	≥ 26	< 24	Interprétation valable pour azithromycine, clarithromycine, dirithromycine et roxithromycine.
Télithromycine	15 µg	≤ 0,25	> 0,5	*≥ 24*	*< 21*	La résistance à la télithromycine doit être vérifiée par un test en l'absence de CO_2 qui permet la catégorisation clinique.
Lincomycine Clindamycine	15 µg	≤ 2 ≤ 0,5	> 8 > 0,5	≥ 21	< 17	Interprétation valable pour clindamycine
Pristinamycine	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 19	-	Interprétation valable pour quinupristine-dalfopristine
sulfaméthoxazole	1,25 / 23,75 µg	≤ 1/19	> 2/38	≥ 19	< 16	Interprétation valable pour les autres associations triméthoprime-sulfamide
Fosfomycine	50 µg	≤ 32	> 32	≥14	< 14	La résistance acquise à la fosfomycine est homogène. La présence de colonies dans la zone d'inhibition ne doit pas être prise en compte.

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*.

Tableau XII (suite)

Antibiotiques	**Charge du disque**	**Concentrations critiques mg/L**		**Diamètres critiques mm**		**Remarques**
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Lévofloxacine	5 µg	≤ 2	> 2	≥ 17	< 17	Le dépistage des pneumocoques de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est réalisé par la mesure de la sensibilité à la norfloxacine. Si le diamètre autour du disque de norfloxacine (chargé à 5 µg) est inférieur à 10 mm et/ou si la CMI est > 16 mg/L, il existe un risque élevé de sélection *in vivo* de mutants résistants aux fluoroquinolones et d'échec clinique.
Moxifloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 0,5	≥ 24	< 24	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0,12	> 2	≥ 30	< 19	
Linézolide	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 24	< 24	
Teicoplanine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17	-	Pour les diamètres < 17 mm, il est recommandé de déterminer la CMI et de confirmer l'identification.
Vancomycine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17	-	
Rifampycine	30 µg	≤ 0,06	> 0,5	≥ 29	< 24	

Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR *STREPTOCOCCUS* SPP. (*S. PNEUMONIAE* EXCEPTE).

Tableau XIII

Antibiotiques	**Charge du disque**	**Concentrations critiques mg/L**		**Diamètres critiques mm**		**Remarques**
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Pénicilline G	-	≤ 0,25	> 2	-	-	La sensibilité des streptocoques à la pénicilline G est évaluée avec un disque d'oxacilline à 5 µg (OXA-5) selon les critères suivants : - diamètre OXA-5 ≥ 21 mm - souche sensible à pénicilline G. Cette interprétation est prédictive de l'activité des autres β-lactamines incluant les streptocoques dans leur spectre. - diamètre OXA-5 < 21 mm - souche I ou R à pénicilline G. Devant toute souche de sensibilité diminuée (OXA-5 < 21 mm), il y a lieu de déterminer la CMI de l'ampicilline, de l'amoxicilline ou du céfotaxime. En cas de résistance, il convient de vérifier l'identification de la souche et sa résistance aux pénicillines. Les streptocoques bêta-hémolytiques, à l'exception de rares souches de streptocoque B, sont sensibles à la pénicilline G
Ampicilline	-	≤ 0,5	> 2	-	-	
Amoxicilline	-	≤ 0,5	> 2	-	-	
Céfotaxime - streptocoques A, B, C et G	-	≤ 0,5	> 0,5	-	-	
- autres streptocoques		≤ 0,5	> 16	-	-	
Streptomycine	500 µg	≤ 250	> 500	≥ 14	< 12	Les streptocoques présentent une résistance naturelle de bas niveau (BNR) à tous les aminoglycosides qui n'empêche pas d'obtenir un effet synergique bactéricide entre un aminoglycoside et une pénicilline ou un glycopeptide. L'acquisition d'une résistance de haut niveau (HNR) aux aminoglycosides, détectée grâce à des disques fortement chargés en streptomycine (S : 500 µg), kanamycine (K : 1000 µg) et gentamicine (G : 500 µg), abolit cet effet synergique bactéricide. **Interprétation des résultats** : SBNR, K^{BNR} et G^{BNR} (∅ ≥ D ; CMI ≤ c) : synergie possible avec les pénicillines ou les glycopeptides en cas de sensibilité à ces derniers antibiotiques. S^{HNR} (∅ < d ; CMI > C) : streptomycine ne peut être utilisée. K^{HNR} (∅ < d ; CMI > C) : kanamycine, amikacine et isépamicine ne peuvent être utilisées. G^{HNR} (∅ < d ; CMI > C) : kanamycine, tobramycine, dibékacine, amikacine, gentamicine, sisomicine, nétilmicine et isépamicine ne peuvent être utilisées. Pour les valeurs « intermédiaires » des diamètres, le niveau de résistance devra être confirmé par dilution en agar ou en bouillon contenant 500 µg/ml de S, K ou G. (HNR : CMI > 500 µg/ml). La combinaison S^{HNR} + K^{HNR} est possible.
Kanamycine	1000 µg	≤ 250	> 500	≥ 14	< 10	
Gentamicine	500 µg	≤ 250	> 500	≥ 17	< 11	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 23	< 23	Interprétation valable pour thiamphénicol
Tétracycline	30 UI	≤ 1	> 2	≥ 23	< 21	Interprétation valable pour les autres tétracyclines, sauf la minocycline
Minocycline		≤ 0,5	> 1			
Tigécycline	*15 µg*	*≤ 0,25*	*> 0,5*	*≥ 22*	*< 22*	*Interprétation valable pour les Streptococcus A, B, C, G*
Erythromycine	15 UI	≤ 0,25	> 0,5	*≥ 26*	*< 24*	Interprétation valable pour azithromycine, clarithromycine, dirithromycine et roxithromycine.
Spiramycine	100 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19	
Télithromycine	15 µg	≤ 0,25	> 0,5	*≥ 24*	*< 21*	
Lincomycine	15 µg	≤ 2	> 8	≥ 21	< 17	Devant une souche résistante à l'érythromycine et sensible à lincomycine ou clindamycine, rechercher le caractère inductible de cette résistance (antagonisme érythromycine-lincomycine). En l'absence d'induction, répondre sensible à la lincomycine et clindamycine. En présence d'induction, répondre résistante à lincomycine et clindamycine
Clindamycine	2 UI	*≤ 0,5*	*> 0,5*	-	-	
Pristinamycine	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	Interprétation valable pour quinupristine-dalfopristine
Lévofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 17	
Moxifloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 24	< 21	
Linézolide	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 28	< 24	
Teicoplanine	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 17	-	Pour les diamètres < 17 mm, il est recommandé de mesurer la CMI et de vérifier l'identification.
Vancomycine	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 17	-	
Daptomycine	-	≤ 1	> 1	-	-	Interprétation valable pour les *Streptococcus* A, B, C, G
Rifampicine	30 µg	≤ 0,06	> 0,5	≥ 29	< 24	
Triméthoprime/sulfaméthoxa-zole	1,25/23,7 5 µg	≤ 1/19	2/38	≥ 19	< 16	Interprétation valable pour les autres associations triméthoprime-sulfamide.

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR *HAEMOPHILUS INFLUENZAE*

Tableau XIV

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques mg/L		Diamètres critiques mm		Remarques
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Ampicilline	2 µg	≤ 1	> 1	≥ 20	< 20	La production de β-lactamase détectée par une technique chromogénique dès l'isolement, confère la résistance aux amino-, carboxy- et uréido-pénicillines. L'activité des ces β-lactamines est restaurée lors de l'association avec un inhibiteur de β-lactamases. La détection d'une sensibilité diminuée aux β-lactamines (souches non productrices de β-lactamase) peut se faire à l'aide d'un disque d'ampicilline 2 µg (diamètre < 20 mm) ou, à défaut, d'un disque de céfalotine 30 µg (diamètre < 17 mm). Certaines de ces souches poussant faiblement sur milieu HTM, on utilise alors une gélose chocolat PolyViteX®. La résistance de faible niveau aux aminopénicillines est croisée avec toutes les bêtalactamines, plus marquée avec les céphalosporines de première génération, le céfuroxime et les carbapénèmes. L'activité des céphalosporines de troisième génération n'est que faiblement altérée. En cas d'infection sévère ou lors d'échec thérapeutique, il y a lieu de déterminer la CMI de l'amoxicilline et/ou d'une bêtalactamine dont les propriétés pharmacologiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutique.
Céfalotine	30 µg	-	> 8	-	< 17	
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 1	1	≥ 21	< 21	
Ertapénème	-	≤ 0,5	-	-	-	
Doripénème	-	*≤ 1*	*> 1*	*≥ 23*	*< 23*	
Céfotaxime	-	≤ 0,12	-	-	-	Sont utilisables en l'absence de critères d'interprétation, car il n'existe pas actuellement d'échec clinique dû à un mécanisme de résistance.
Ceftriaxone	-	≤ 0,12	-	-	-	
Tétracycline	30 UI	≤ 1	> 2	*≥ 23*	*< 20*	Interprétation valable pour les autres tétracyclines
Triméthoprime/sulfaméthoxa-zole	1,25 / 23,75 µg	≤0,5 / 9,5	> 1/19	≥ 24	-	Ne peut être testé sur gélose chocolat. Utiliser le milieu HTM.
Chloramphénicol	30 µg	≤ 1	> 2	*≥ 30*	*< 26*	
Rifampicine	30 µg	≤ 0,5	> 0,5	*≥ 24*	*< 24*	
Kanamycine	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 18	< 15	Interprétation valable pour amikacine, tobramycine et nétilmicine
Gentamicine	15 µg	≤ 2	> 4	≥ 16	< 14	
Azithromycine	-	≤ 0,12	> 4	-	-	*H. influenzae* apparaît généralement intermédiaire aux macrolides avec un cycle à 14 et 15 atomes, aux kétolides et à la pristinamycine, et résistant aux macrolides avec un cycle à 16 atomes et aux lincosamides.
Clarithromycine	-	≤ 1	> 32	-	-	
Erythromycine	-	≤ 0,5	> 16	-	-	
Roxithromycine	-	≤ 1	> 16	-	-	
Télithromycine	-	≤ 0,12	> 8	-	-	
Acide nalidixique	30 µg	-	-	-	< 21	
Ofloxacine	-	≤ 0,5	-	-	-	La détection de la sensibilité diminuée aux fluoroquinolones peut être réalisée en utilisant un disque d'acide nalidixique (30 µg). Si le diamètre d'inhibition est inférieur à 21 mm, les CMI des fluoroquinolones doivent être déterminées.
Lévofloxacine	-	≤ 1	-	-	-	
Ciprofloxacine	-	≤ 0,5	-	-	-	
Moxifloxacine	-	≤ 0,5	-	-	-	

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR *NEISSERIA MENINGITIDIS*

Tableau XV :

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques mg/L		Diamètres critiques mm		Remarques
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Pénicilline G	-	≤ 0,06	> 0,25	-	-	La détection d'une sensibilité diminuée aux pénicillines est effectuée en routine à l'aide d'un disque d'oxacilline (5 µg) selon les critères suivants : OXA 5 µg ≥18 mm, souche sensible aux pénicillines ; OXA 5 µg <18 mm, sensibilité diminuée à la pénicilline G et/ou amoxicilline à confirmer par la détermination des CMI. La résistance à haut niveau aux pénicillines par production de bêta-lactamase est extrêmement rare. Elle est détectée par une technique chromogénique.
Amoxicilline	-	≤ 0,12	> 1	-	-	
Oxacilline	5 µg	-	-	≥ 18	-	

Tableau XV (suite)

Antibiotiques	**Charge du disque**	**Concentrations critiques mg/L**		**Diamètres critiques mm**		**Remarques**
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Céfotaxime (H)	-	≤ 0,12	-	-	-	
Ceftriaxone	-	≤ 0,12	-	-	-	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 30	-	
Rifampicine	30 µg	≤ 0,25	-	≥ 30	-	Antibiotique utilisé uniquement en prophylaxie
Spiramycine	100 µg	≤ 1	> 4	-	-	Antibiotique utilisé uniquement en prophylaxie
Ciprofloxacine	-	≤ 0,03	> 0,06	-	-	

(H) – Antibiotique distribué en milieu hospitalier

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR *NEISSERIA GONORRHOEAE*

Tableau XVI :

Antibiotiques	**Charge du disque**	**Concentrations critiques mg/L**		**Diamètres critiques mm**		**Remarques**
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Pénicilline G	-	≤ 0,06	> 1	-	-	La production de β-lactamase doit être détectée par une technique chromogénique dès l'isolement. Elle confère la résistance à la pénicilline G, aux amino-, carboxy- et uréido-pénicillines. L'activité de ces β-lactamines est restaurée lors de l'association avec un inhibiteur de β-lactamase. La détection d'une sensibilité diminuée aux pénicillines sera effectuée en routine par détermination de la CMI de la pénicilline G sur gélose chocolat PolyViteX®.; si la méthode E-test® est utilisée, ensemencer par écouvillonnage.
Amoxicilline	-	≤ 0,25	> 2	-	-	
Ceftriaxone	-	≤ 0,12	-	-	-	
Céfixime	-	≤ 0,12	-	-	-	
Spectinomycine	100 µg	≤ 64	> 64	≥ 20	< 20	
Chloramphénicol	-	≤ 4	> 16	-	-	
Tétracycline	30 UI	≤ 0,5	> 1	-	< 19	Interprétation valable pour la doxycycline et la minocycline. Un diamètre < 19 mm fait suspecter une résistance due à la présence du gène *tetM*.
Azithromycine	-	≤ 0,25	> 0,5	-	-	
Acide nalidixique	30 µg	-	-	-	< 25	La détection d'une sensibilité diminuée ou d'une résistance aux fluoroquinolones est effectuée à l'aide d'un disque d'acide nalidixique (30 µg). Si le diamètre est inférieur à 25 mm, mesurer les CMI de l'ofloxacine ou de la ciprofloxacine.
Ofloxacine	-	≤ 0,12	> 0,25	-	-	
Ciprofloxacine	-	≤ 0,03	> 0,06	-	-	

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR *CAMPYLOBACTER* SPP.

Tableau XVII

Antibiotiques	**Charge du disque**	**Concentrations critiques mg/L**		**Diamètres critiques mm**		**Remarques**
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Ampicilline	10 µg	≤ 4	> 16	≥ 19	< 14	Cf règle (1).
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µ	≤ 4/2	> 16/2	≥ 21	< 14	Cf règle (1).
Céfalotine (H)	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12	Cf règle (1).
Céfotaxime (H)	30 µg	≤ 1	> 2	*≥ 26*	*< 23*	Cf règle (1).
Streptomycine	10 UI	≤ 8	> 16	≥ 15	< 13	Cf règles (1) et (2).
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf règles (1) et (2).
Kanamycine	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Cf règles (1) et (2).
Tobramycine	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf règles (1) et (2).
Erythromycine	15 UI	≤ 1	> 4	≥ 22	< 17	Cf règles (1). Interprétation valable pour clarithromycine
Acide nalidixique	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 15	Cf règle (1).
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	Cf règle (1).
Tétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 23	< 19	

Règles de lecture interprétative du tableau XVII

Remarques : selon les antibiotiques, la corrélation entre CMI et diamètres est parfois difficile à établir. En cas de doute sur les résultats obtenus par diffusion en milieu gélosé, il y a lieu de déterminer les CMI par une méthode de référence ou toute méthode ayant montré, pour les antibiotiques concernés, son équivalence avec la méthode de référence.

(1) Pour *Campylobacter* spp., une absence de zone d'inhibition autour des disques de b-lactamines, aminosides, macrolides ou quinolones traduit une résistance de haut niveau.

(2)Compte tenu des conditions d'incubation (anaérobiose ou microaérobiose), les diamètres des zones d'inhibition autour des disques d'aminosides sont toujours réduits.

CONCENTRATIONS, DIAMETRES CRITIQUES ET REGLES DE LECTURE INTERPRETATIVE POUR LES ANAEROBIES STRICTS.

Tableau XIX

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques mg/L		Diamètres critiques mm		Remarques
		S(cci)	R(ccs)	S (D)	R (d)	
Pénicilline G		≤ 0,25	> 0,5			
Amoxicilline		≤ 0,5	> 2	-	-	Interprétation pour les anaérobies à Gram négatif. Cf. règles (1) et (2).
Amoxicilline	25 µg	≤ 4	> 8	*≥ 21*	*< 17*	Interprétation pour les anaérobies à Gram positif. Cf. règle (3). Interprétation valable pour pénicilline G et ampicilline.
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 4/2	> 8/2	*≥ 21*	*< 17*	Cf. règle (4).
Ticarcilline	75 µg	≤ 8 ≤ 16	> 16 > 16	*≥ 24* *≥ 22*	*< 22* *< 22*	Interprétation pour les anaérobies à Gram positif. Interprétation pour les anaérobies à Gram négatif.
Ticarcilline/ac. clavulanique	75/10 µg	≤ 8/2	> 16/2	*≥ 24*	*< 22*	Pour *Bacteroides fragilis*, l'interprétation est valable pour la pipéracilline
Pipéracilline	75 µg	≤ 8 ≤ 16	> 16 > 16	*≥ 20* *≥ 18*	*< 18* *< 18*	Interprétation pour les anaérobies à Gram positif. Interprétation pour les anaérobies à Gram négatif.
Pipéracilline/tazobactam	75/10 µg	≤ 8/4	> 16/4	*≥ 21*	*< 19*	Pour *Bacteroides fragilis*, l'interprétation est valable pour la ticarcilline.
Imipénème Ertapénème Méropénème Doripénème	10 µg 10 µg	≤ 2 ≤ 1 ≤ 2 *≤ 1*	> 8 > 1 ≤ 8 *> 1*	*≥ 24* *≥ 26* *≥ 22*	*< 17* *< 26* *< 15*	Cf. règle (4).
Céfoxitine Céfotétan Céfotaxime	 30 µg	- - ≤ 4	> 32 > 32 > 32	- - ≥ 21	- - < 15	 Cf. règle (5).

Règles de lecture interprétative tablaeu XIX

Remarque : selon les antibiotiques, la corrélation entre CMI et diamètres est parfois difficile à établir et diffère selon les espèces, en particulier pour les espèces à croissance lente. En cas doute sur les résultats obtenus par diffusion en milieu gélosé, il y a lieu de déterminer les CMI par une méthode de référence ou toute méthode ayant montré, pour les antibiotiques concernés, son équivalence avec la méthode de référence.

(1) Chez *Fusobacterium*, la production de ß-lactamase détectée par une méthode chromogénique dès l'isolement, confère la résistance à la pénicilline G et aux amino-, carboxy- et uréido-pénicillines. L'activité est restaurée lors de l'association avec un inhibiteur de ß-lactamase.

(2) Chez *Prevotella*, la production de ß-lactamase, confère la résistance à la pénicilline G et aux amino-pénicillines, céphalosporines 1ère génération, céfuroxime et aux céphalosporines de 3ème génération orales. L'activité est restaurée lors de l'association avec un inhibiteur de ß-lactamase. La détection par la nitrocéphine n'est pas aisée (faible affinité pour le substrat, production à bas niveau, pigmentation des souches). Les CMI de l'amoxicilline sont inférieures à 0,5mg/L pour les souches non productrices de ß-lactamase La CMI de l'amoxicilline peut être déterminée par toute technique ayant démontré, pour cet antibiotique, son équivalence avec la technique de référence, par exemple l'epsilomètre.

(3) Chez *Clostridium butyricum, C. clostridioforme* et *C. ramosum*, la production de ß-lactamase est détectée par une méthode chromogénique dès l'isolement. Seule la ß-lactamase de *C. butyricu*m est inhibée, aux concentrations thérapeutiques, par les inhibiteurs de ß-lactamase.

(4) La résistance à l'imipénème est décrite en France chez *Bacteroides fragilis* (carbapénèmase) et *B. distasonis*. La résistance est croisée pour l'ensemble des ß-lactamines même associées à des inhibiteurs de ß-lactamases.

(5) Pour *Bacteroides* du groupe *fragilis*, interpréter I tout résultat S aux céphalosporines de 3ème génération (ß-lactamase chromosomique).

E-TEST® POUR L'ETUDE DE LA SENSIBILITE AUX AGENTS ANTIMICROBIENS

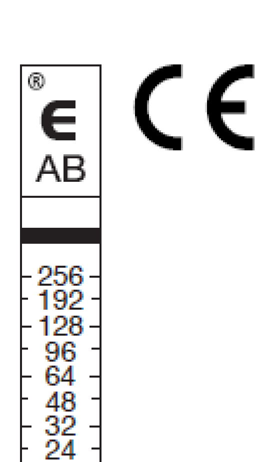


bioMérieux 2009-08 (75002288-MJ0132)

UTILISATION PREVUE

Etest est une technique quantitative pour la détermination sur milieu gélosé de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des agents antimicrobiens vis-à-vis des microorganismes et pour la détection des mécanismes de résistance.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION



Etest se compose d'une mince bandelette de plastique inerte et non poreuse calibrée avec une échelle de CMI exprimée en µg/mL et un code pour identifier l'agent antimicrobien ou les réactifs. Un gradient prédéfini de concentrations d'antibiotique ou d'antifongique comprenant 15 dilutions correspondant aux méthodes de CMI conventionnelles est immobilisé sur l'autre surface du support. Pour la détection des BLSE (Bêtalactamase à Spectre Etendu) et des MBL (Métallo-bêtalactamases), un gradient est présent sur les deux côtés de la bandelette et contient les réactifs appropriés à leur détection.
Lorsqu'une bandelette Etest est appliquée sur la surface d'une gélose ensemencée, le gradient exponentiel préformé de l'agent antimicrobien est immédiatement transféré dans la matrice de l'agar. Le gradient de concentration, continu et prédéfini, établi le long de la bandelette reste stable pendant une longue période de temps permettant de couvrir les temps critiques d'une large variété de micro-organismes. Après une période d'incubation, d'une nuit ou plus, une ellipse d'inhibition symétrique centrée le long de la bandelette est formée. La CMI est lue directement à partir de l'échelle de graduation et exprimée en µg/mL au point où l'ellipse d'inhibition croise la bandelette. D'autres profils de croissance/ inhibition peuvent aussi être vus pour des méthodes de détection de la résistance.

REACTIFS(…)

STOCKAGE

Etest doit toujours être stocké à la température indiquée sur l'emballage jusqu'à la date d'expiration. Les bandelettes non utilisées issues d'un emballage ouvert sont à garder à l'abri de l'humidité en les conservant dans un récipient hermétique avec un sachet dessicant actif et peuvent alors être utilisées jusqu'à la date de péremption. Les Etest conditionnés en cartouche en mousse peuvent également être stockés en clampant l'emballage aluminium. Les Etest non utilisés sont à protéger de l'humidité et de la chaleur.

MANIPULATION

Laisser revenir les bandelettes à température ambiante avant utilisation. Ouvrir l'emballage en blister en coupant au sommet d'un compartiment ou pour l'emballage en cartouche au sommet de l'emballage aluminium. Les Etest peuvent être saisis manuellement avec les doigts ou comme indiqué sous la rubrique « application de la bandelette ». Ne pas toucher la bandelette sur la surface contenant l'antibiotique, c'est-à-dire la face opposée à l'échelle de lecture.

PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

Etest est destiné à un usage diagnostic in vitro seulement. Bien que Etest soit une procédure très simple, un personnel entraîné aux techniques d'étude de la sensibilité des antimicrobiens est recommandé.

PROCEDURE

Matériels fournis:

- 100 ou 30 bandelettes Etest
- 1 notice d'emploi

Matériels nécessaires mais non fournis:

- Milieux gélosés adéquats pour l'étude de la sensibilité aux antimicrobiens
- Milieux liquides pour la préparation de l'inoculum
- Öses stériles, écouvillons, tubes à essai, pipettes et ciseaux, clamps et pot de conservation avec dessicateur
- Pinces, applicateur manuel de Etest, Biotools
- Etalons standard de turbidité McFarland 0.5, 1 et 2
- Incubateur, jarre anaérobie ou chambre anaérobie ou incubateur CO_2
- Souches de contrôle de qualité
- Manuel Technique Etest (www.biomerieux.com pour le téléchargement)

METHODE

Des informations complémentaires pour les différentes utilisations sont fournies sur le site www.biomerieux.com.

Milieu gélosé: Sélectionner un milieu et des suppléments appropriés pour l'espèce bactérienne étudiée. S'assurer que le milieu réponde aux critères de qualité et que l'épaisseur de la gélose soit de 4.0 ± 0.5 mm.

Préparation de l'inoculum:Emulsionner dans un bouillon adapté un nombre adéquat de colonies bien isolées à partir d'une culture pure d'une nuit. Les microorganismes à croissance difficile doivent être émulsionnés en bouillon et utilisés dans les 15 minutes. Comparer la turbidité par rapport au standard McFarland approprié.

Ensemencement: Plonger un écouvillon stérile dans la suspension et retirer l'excès de liquide en appuyant l'écouvillon contre la paroi interne du tube. Ecouvillonner doucement toute la surface de la gélose dans trois directions. Le Retro C80 (ensemenceur rotatif) peut également être utilisé pour ensemencer la surface de la gélose. Pour les tests antifongiques, ensemencer deux fois la boîte en plongeant l'écouvillon dans la suspension entre les deux fois. Laisser absorber complètement l'humidité en excès et s'assurer que la surface de la gélose est complètement sèche avant le dépôt des bandelettes Etest.

Application des bandelettes: Appliquer les bandelettes Etest à la surface de la gélose en s'assurant que l'échelle de CMI soit positionnée correctement (vers soi). Utiliser une paire de pince, un applicateur manuel, le Nema C88 (stylo applicateur) ou le Simplex C76 (applicateur automatique). Veiller à ce que tout le gradient antibiotique soit en contact avec la surface de la gélose. Une fois appliquées, ne plus toucher aux bandelettes Etest. Modèles d'application: Des exemples de modèles d'application sont disponibles sur le site www.biomerieux.com.

Incubation: Les boites sont incubées sur le couvercle dans les conditions appropriées pour chaque microorganisme étudié.

Lecture: Lire la CMI de l'antibiotique au point d'intersection de l'ellipse d'inhibition et de la bandelette. Des informations complémentaires pour la lecture des différents aspects de croissance/inhibition sont disponibles sur le site www.biomerieux.com.

INTERPRÉTATION

Détermination de la sensibilité: Les concentrations critiques en CMI pour les différentes catégories de sensibilité comme proposées par le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.), aux USA ou par le Comité National de l'Antibiogramme, peuvent être utilisées pour interpréter les valeurs de CMI données par le Etest. Toujours arrondir les demi-dilutions de l'échelle du Etest à la valeur supérieure correspondante aux doubles dilutions standards avant de catégoriser les souches. Une vue d'ensemble des critères d'interprétation du CLSI est indiquée dans le Tableau 1.

BLSE et MBL détection: Un ratio de CMI ≥ 8 entre les deux réactifs ou la présence d'une zone fantôme ou la déformation d'une des deux ellipses indique la présence d'une BLSE ou d'une MBL.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Tester les souches de contrôle de qualité appropriées selon les recommandations du CLSI aux USA ou selon les recommandations de votre Comité National de l'Antibiogramme (CA-SFM).
Une vue d'ensemble des critères d'interprétation du CLSI est indiquée dans le Tableau 1. N'hésitez pas à réclamer des données complémentaires de contrôle de qualité sur le site www.biomerieux.com.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Les performances sont décrites dans le Tableau 1 et d'autres informations sont disponibles sur le site www.biomerieux.com.

OBSERVATION IMPORTANTE

Comme toutes les données sur l'étude de la sensibilité aux antimicrobiens, les résultats du Etest ne sont que des valeurs in vitro donnant seulement une indication de la sensibilité potentielle de l'organisme in vivo. L'utilisation des résultats afin de guider la thérapie doit être faite sur la seule et entière responsabilité du clinicien.
(…)

BIBLIOGRAPHIE (…)
GARANTIE ET LIMITE DE RESPONSABILITE (…)

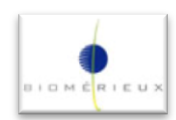
TABLEAU 1 : CONTROLE DE QUALITE, PERFORMANCE ET CRITERES D'INTERPRETATION DU E-TEST®

Antibiotique CMI µg/mL	Code	Performance	Nombre de souches testées	% EA (% Essential Agreement) ⇔ concordance	Critéres d'interprétation (CLIS* 2009)				Contrôle de qualité		
						S ≤	I	R ≥	Taxon	Référence ATCCC	CMI µg/mL
…											
Amoxicilline 0.016 - 256	AC	*S. pneumoniae*	200	98	*S. pneumoniae* hors méningite	2	4	8	*S. pneumoniae*	ATCC 49619	0,032 – 0,125
…											

* Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications

MYCOBIOGRAMME (MYCOBIO-T) TEST DE SENSIBILITE DES MYCOBACTERIES AUX ANTIBIOTIQUES



bioMérieux® réf. 41 740-2002/09

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

Le test Mycobiogramme est destiné à l'étude de la sensibilité des mycobactéries aux antibiotiques par la méthode des proportions décrite par CANETTI.

PRINCIPE

Le test Mycobiogramme est composé de milieux de Löwenstein-Jensen additionnés ou non d'antibiotiques à différentes concentrations.
Les échantillons sont ensemencés à différentes dilutions dans des tubes contenant 1 ou 2 concentrations d'antibiotique, ainsi que dans des tubes témoins sans antibiotique.
Le rapport entre la croissance observée dans les tubes avec antibiotiques et dans les tubes témoins indique la proportion de bacilles résistants pour la souche étudiée.
Une souche est dite résistante à un antibiotique lorsque la proportion de bacilles qu'elle contient atteint ou dépasse un certain pourcentage appelé « proportion critique ».

PRESENTATION

REF 41 740 Milieux prêts à l'emploi
Coffret de 26 tubes (pente) :
2 tubes témoin non imprégnés pH 7,1
20 tubes imprégnés d'antibiotiques pH 7,1
(2 tubes de chaque antibiotique à 2 concentrations) :

- I.N.H (Isoniazide) :	0,2 et 1 µg/ml
- ETHAMBUTOL :	2 et 3 µg/ml
- STREPTOMYCINE :	4 et 10 µg/ml
- PAS (Acide para amino 4 salicylique) :	0,5 et 1 µg/ml
- RIFAMYCINE :	20 et 40 µg/ml

2 tubes témoin non imprégnés pH 5,5 *
2 tubes imprégnés d'antibiotiques pH 5,5 *:
- PYRAZINAMIDE : 200 µg/ml
+ 1 notice.
* L'activité du pyrazinamide ne se manifestant qu'à un pH acide, les milieux destinés à l'étude de cet antibiotique sont ajustés à pH 5,5.

COMPOSITION

Milieu de base Lowenstein-Jensen :
Formule théorique en g/l d'eau purifiée.
Ce milieu peut être ajusté et/ou supplémenté en fonction des critères de performances imposés.

Fécule de pomme de terre	30
Glycérol	7,4 ml
Œuf entier	620 ml
Phosphate monopotassique	2,5
Sulfate de magnésium	0,24
Citrate de magnésium	0,6
L-asparagine	3,6
Vert Malachite	0,4

Antibiotique (tubes imprégnés) :
Se reporter au paragraphe présentation.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

• Etuve bactériologique.
• Portoirs adaptés.
• Tubes capsulés avec billes de verre.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

• Pour diagnostic in vitro uniquement.
• Pour usage professionnel uniquement.
• Ce coffret contient des composants d'origine animale.
La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer ; ne pas inhaler).
• Les prélèvements, cultures bactériennes et produits ensemencés doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation; se référer à "NCCLS M29-A, Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline - December 1997".
Pour informations complémentaires sur les précautions de manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, HHS Publication No. (CDC) 93-8395, 3rd Edition (May 1993)", ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
• En raison du pouvoir pathogène élevé des souches recherchées, il est recommandé de manipuler dans un environnement adapté.
• Les milieux de culture ne doivent pas être utilisés comme matériau ou composant de fabrication.
• Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
• Ne pas utiliser des tubes présentant une suspicion de contamination.
• Avant utilisation, s'assurer de l'intégrité de la capsule des tubes.
• Les performances présentées ont été obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.
• L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique, des aspects macro et microscopiques et éventuellement des résultats d'autres tests.

CONDITIONS DE STOCKAGE

• Les tubes se conservent entre 2°C et 8°C en position horizontale dans leur coffret jusqu'à la date de péremption.
• Conserver à l'abri de la lumière.

ECHANTILLONS

Les milieux peuvent être ensemencés :
• à partir d'un prélèvement d'expectoration traité par fluidification et décontamination (méthode directe).
• à partir d'une souche provenant de prélèvements d'origines diverses et isolée sur milieu de Lowenstein-Jensen (méthode indirecte).
• Il convient de respecter les bonnes pratiques en terme de prélèvements, de transport et de traitement, adaptées à la recherche des mycobactéries.

MODE OPERATOIRE

Laisser les tubes revenir à température ambiante.

Préparation de l'inoculum :

Méthode directe :

Cette méthode ne doit être effectuée que lorsque l'examen direct du produit pathologique met en évidence un nombre suffisant de bacilles acido-alcoolo-résistants (AAR) (supérieur à 1 bacille par champ).

1. Reprendre le culot de centrifugation obtenu après traitement du prélèvement (par fluidification et décontamination) par 3 ml d'eau distillée stérile.
2. Réaliser des dilutions à 10-2, 10-4 en eau distillée stérile.
3. Ensemencer 0,2 ml de chaque dilution selon le tableau suivant :

	Tubes témoins	**Tubes avec antibiotiques**
Pur		X
10^{-2}	X	X
10^{-4}	X	

Méthode indirecte :

1. Prélever plusieurs colonies et les transférer dans un tube vissé stérile contenant 8 à 12 billes de verre.
2. Agiter pendant 30 secondes pour favoriser la dispersion des mycobactéries.
3. Ajouter 0,5 ml d'eau distillée stérile.
4. Agiter pendant 10 secondes.
5. Ajouter 5 ml d'eau distillée stérile.
6. Homogénéiser la suspension.
7. Ajuster l'opacité de la suspension à celle d'un étalon BCG à 1 mg/ml (échelle N° 2 de Mac Farland).
8. Réaliser des dilutions à 10-3, 10-5 et 10-6 en eau distillée stérile.
9. Ensemencer 0,2 ml de chaque dilution selon le tableau suivant :

	Tubes témoins	**Tubes avec antibiotiques**
10^{-3}		X
10^{-5}	X	X
10^{-6}	X	

Remarque : pour l'étude du pyrazinamide, ensemencer les tubes témoin à pH 5,5.

Incubation:

Incuber à l'étuve à 37°C capsule débloquée, en position inclinée, jusqu'à évaporation du liquide, avant de revisser les tubes.

Le choix de la température d'incubation est de la responsabilité de l'utilisateur en fonction de l'origine du prélèvement, de l'application et des normes en vigueur.

LECTURE ET INTERPRETATION

- La lecture est effectuée généralement entre le 21ème et le 28ème jour.
- Compter le nombre de colonies apparues dans les tubes avec antibiotiques et dans les tubes témoins.
- Calculer le rapport entre ces deux valeurs.
- En déduire pour chaque antibiotique la proportion de bacilles résistants pour la souche bactérienne.
- Une souche est dite résistante lorsque cette proportion atteint ou dépasse un seuil appelé « proportion critique » figurant dans le tableau suivant : antibiotique concentration (µg/ml) proportion critique (%)

Antibiotique	**Concentration (µg/mL)**	**Proportion critique (%)**
Izionaside INH	0.2 1	1 0.1
Etambutol	2 3	1 1
Streptomycine	4 10	1 0.1
PAS	20 40	20 1
Rifamycine	20 40	20 1
Pyrazinamide	200	1

CONTROLE DE QUALITE

Protocole :

Le contrôle des milieux peut être réalisé à l'aide des souches suivantes:

- Mycobacterium tuberculosis H37 Rv
- Mycobacterium kansasii ATCC 12478

vis-à-vis de l'antibiotique I.N.H aux deux concentrations.

Suivre le mode opératoire de la méthode indirecte en réalisant les dilutions et les ensemencements suivants :

	Tubes témoins	Tubes avec antibiotqiues
Mycobaterium tuberculosis H37 Rv	10^{-3} 10^{-4}	10^{-1} 10^{-2}
Mycobacterium kansasii ATCC 12478	10^{-3} 10^{-4}	10^{-3} 10^{-4}

Résultats attendus à 35 – 37°C :

	Tubes témoins	Tubes avec antibiotqiues
Mycobaterium tuberculosis H37 Rv	Croissance forte	Croissance faible à nulle
Mycobacterium kansasii ATCC 12478	Croissance forte	Croissance forte

Remarque :

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de prendre en compte la nature de l'application et la législation locale en vigueur pour la mise en œuvre du contrôle de qualité (fréquence, nombre de souches, température d'incubation...).

LIMITES DU TEST

- Certaines souches à croissance lente peuvent nécessiter des dilutions plus faibles que celles qui sont indiquées.
- Les tubes peuvent présenter des dépôts lipidiques à la surface de la gélose ne devant pas être confondus avec une contamination.

PERFORMANCES

Les performances ont été évaluées, à 37°C, sur 4 souches de mycobactéries (souches sensibles et résistantes).

Résultats :

- Sur les tubes avec antibiotiques :

- les 2 souches sensibles ont présenté une croissance faible à nulle après 4 semaines.

- les 2 souches résistantes ont présenté une croissance abondante après 4 semaines.

- Sur les tubes témoins, les 4 souches ont présenté une croissance abondante.

ELIMINATION DES DECHETS

Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications



ATB™ G- ANTIBIOGRAMME POUR LES ENTEROBACTERIES

bioMérieux® réf.14 319 – 2008/01

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

La galerie ATB G- permet de déterminer la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries en milieu semi-solide dans des conditions très proches des techniques de référence de dilution en gélose ou de micro-dilution (selon les recommandations du CASFM ou CLSI®/NCCLS).

PRINCIPE

La galerie ATB G- comporte 16 paires de cupules. La première, sans antibiotique, sert de témoin de croissance. Les 15 suivantes contiennent des antibiotiques à une seule ou deux concentrations (c et C). La bactérie à tester est mise en suspension puis transférée dans le milieu de culture et inoculée dans la galerie. Après incubation, la lecture de la croissance se fait soit visuellement, soit avec l'automate ATB ou mini API ®. Le résultat obtenu permet de catégoriser la souche Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

PRESENTATION (…)

COMPOSITION DE LA GALERIE

La composition de la galerie ATB G- est mentionnée dans le tableau « Contrôle de Qualité » de cette notice.

REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Réactifs et instruments

- API Suspension Medium ou API NaCl 0,85 % Medium ou en fonction de la galerie d'identification utilisée]
- ATB Medium
- McFarland Standard (Réf. 70 900) ou DENSIMAT ou Densitomètre ATB
- Pipette Electronique ATB ou Inoculateur ATB et Embouts
- Automate ATB ou mini API avec logiciel (consulter bioMérieux)

Matériel (…)

PRECAUTIONS D'UTILISATION (…)

Les performances présentées sont obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut altérer les résultats.

L'interprétation et la validation des résultats de l'antibiogramme doit être faite en tenant compte du contexte clinique, de l'origine du prélèvement, de l'identification de la souche, éventuellement des résultats de tests complémentaires et des recommandations locales en vigueur.

L'interprétation et la validation sont facilitées par le système Expert ATB.

CONDITIONS DE STOCKAGE (…)

ECHANTILLONS (PRELEVEMENT ET PREPARATION)

La galerie ATB G- ne doit pas être utilisée directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autres.

Les microorganismes à tester doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de bactériologie.

MODE OPERATOIRE

Préparation de la galerie (…)

Préparation de l'inoculum

Préparer une suspension bactérienne d'opacité équivalente à l'étalon 0,5 de McFarland. Comparer au témoin d'opacité du kit McFarland Standard ou utiliser le

Densitomètre ATB ou le DENSIMAT (se reporter au manuel d'utilisation).

Deux méthodes :

- culture en bouillon jusqu'à obtention de l'opacité indiquée ;
- mise en suspension de 1 ou plusieurs colonies fraîchement isolées (souches cultivées depuis moins de 48h) dans une ampoule d'API® Suspension Medium ou d'API NaCl 0,85 % Medium.

Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

NOTE : il est recommandé de contrôler la pureté de l'inoculum et de réisoler dans le cas de cultures mixtes.

Transférer 10 µl de cette suspension dans ATB Medium à l'aide d'une oese calibrée ou d'une pipette.

Inoculation de la galerie

Inoculation MANUELLE :

- Homogénéiser ATB Medium avec la Pipette Electronique ATB en évitant la formation de bulles.
- Inoculer la galerie en distribuant 135 µl d'ATB Medium par cupule avec la Pipette Electronique ATB (environ 2 x 105 germes/ml ou 3 x 104 germes/cupule).(…)

Incuber 18-24 heures à 36 ± 2°C en aérobiose.

LECTURE ET INTERPRETATION

Rechercher dans chaque cupule la présence d'un trouble (+) par lecture visuelle ou automatique par l'automate ATB ou mini API (se reporter aux manuels d'utilisation).

Lors de la lecture automatique de la galerie :

- vérifier la propreté de la partie centrale de la galerie afin de permettre la reconnaissance du code de la galerie par le lecteur,
- vérifier la concordance entre l'intitulé imprimé sur la galerie et l'intitulé de la galerie proposé par le logiciel.

Pour les antibiotiques testés à deux concentrations :

Aspect des cupules		Résultats			La souche est :
c	C	c	C		
clair	clair	-	-	S	Sensible
trouble	clair	+	-	I	Intermédiaire
trouble	trouble	+	+	R	Résistante

Pour les antibiotiques testés à une seule concentration :

Aspect de la cupule	Résultat		La souche est :
clair	-	S	Sensible
trouble	+	R	Résistante

NOTES :

L'absence de croissance dans une (ou deux) cupule(s)-témoin invalide l'antibiogramme qui doit être recommencé.

Un résultat c(–) C(+) est un non-sens (N) : répéter le test avec une nouvelle galerie.

En lecture visuelle, une croissance limitée à la périphérie de la cupule doit être lue négative.

Une galerie dont les cupules sont partiellement desséchées suite à l'incubation peut induire de faux résultats. L'antibiogramme doit être recommencé.

Triméthoprime – Sulfaméthoxazole (TSU) : Considérer comme négatif toute croissance inférieure au témoin de croissance.

Le test Ceftazidime-1 (CA1) permet au sytème Expert ATB d'améliorer la sensibilité de détection des mécanismes de résistance aux ß-lactamines, notamment des ß lactamases à spectre élargi. Le résultat de ce test ne doit pas être rendu au clinicien.

CONTROLE DE QUALITE

Pour vérifier la standardisation de la méthode suivie, des contrôles de qualité avec la souche test indiquée pour cette galerie doivent être réalisés (voir tableau Contrôle de Qualité en fin de notice).(…)

LIMITES DU TEST

Un temps d'attente entre les diverses étapes de la manipulation (de la préparation de l'inoculum à l'incubation de la galerie) peut affecter les résultats.
Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées. Des cultures mixtes ou contaminées peuvent affecter les résultats.

RESULTATS ATTENDUS

Les profils de résistance des tests antibiotiques variant en fonction de la zone géographique, les résultats attendus sont donc directement dépendants de l'écologie microbienne locale (espèces / mécanismes de résistance).

PERFORMANCES

Les performances de la galerie ATB G- ont été déterminées en utilisant deux souchiers comprenant les genres bactériens suivants : Escherichia Cedecea Enterobacter Hafnia Klebsiella Citrobacter Proteus Morganella Providencia Serratia Yersinia
Le premier souchier a permis d'établir le taux de concordance des catégorisations pour chaque antibiotique. Les catégorisations de référence ont été déterminées à partir des résultats de CMI obtenues avec la méthode de dilution en gélose, et comparées à celles établies par la galerie ATB G-. Il y a concordance lorsque les catégorisations cliniques des deux méthodes sont identiques.
Le second souchier provenant du Centre National de Référence des Antibiotiques (Institut Pasteur, Paris France) a permis de vérifier l'expression des mécanismes de résistance.
Un mécanisme de résistance est exprimé lorsque les résultats de catégorisation des antibiotiques marqueurs sont compatibles avec le profil attendu.
Enfin, un résultat est dit reproductible si les 3 résultats de catégorisation déterminés de manière indépendante sont identiques.
Taux de concordance
Le taux de concordance de la galerie ATB G- obtenu à partir de 100 souches est de 93 %.
Les taux d'erreurs majeures et d'erreurs très majeures obtenus avec la galerie ATB G- sont respectivement de 2 % et 1 %.
Expression des mécanismes de résistance
Indépendamment du système expert, l'étude, portant sur 45 souches, a permis de vérifier que les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques rencontrés chez les entérobactéries s'expriment avec la galerie ATB G-.
Reproductibilité
Le taux de reproductibilité global de la galerie ATB G- est de 94 % (établi avec un minimum de 10 souches par antibiotique).
ELIMINATION DES DECHETS (…)

CONTRÔLE DE QUALITÉ

ATB G- réf.14 319
Entérobactéries

			mg/l	**CQ1**
01.	AMO	AMOXICILLINE	4 - 16	S/I
02.	AMC	AMOXICILLINE-ACIDE CLAVULANIQUE	4/2 - 16/2	S/I
03.	TIC	TICARCILLINE	16	S
	TCC	TICARCILLINE-ACIDE CLAVULANIQUE	16/2	S
04.	TZP	PIPERACILLINE+TAZOBACTAM	8/4 - 64/4	S
05.	PIC	PIPERACILLINE	8	S
	IMI	IMIPENEME	4	S
06.	CFT	CEFALOTINE	8	S/R
	CXT	CEFOXITINE	8	S
07.	CTX	CEFOTAXIME	4 - 32	S
08.	CAZ	CEFTAZIDIME	4 - 32	S
09.	CA1	CEFTAZIDIME - 1	1	S
	FOS	FOSFOMYCINE	32	S
10.	FEP	CEFEPIME	4 - 32	S
11.	GEN	GENTAMICINE	4	S
	TOB	TOBRAMYCINE	4	S
12.	NET	NETILMICINE	4	S
	AKN	AMIKACINE	8	S
13.	TSU	COTRIMOXAZOLE	2/38	S
	NAL	ACIDE NALIDIXIQUE	8	S
14.	OFL	OFLOXACINE	1 - 4	S
15.	CIP	CIPROFLOXACINE	1 - 2	S

CQ1 : Escherichia coli ATCC® 25922 La galerie ATB G- a été conçue en suivant les recommandations du comité CA-SFM 2003 (1).Les modifications de concentrations critiques liées à l'harmonisation Européenne (recommandations de l'EUCAST) nesont pas appliquées actuellement. Elles feront l'objet d'une implémentation globale à l'issue de leur publication co mplète.

METHODOLOGIE - FICHE DE RESULTAT

ATB G- REF **14 319**

Origine

____

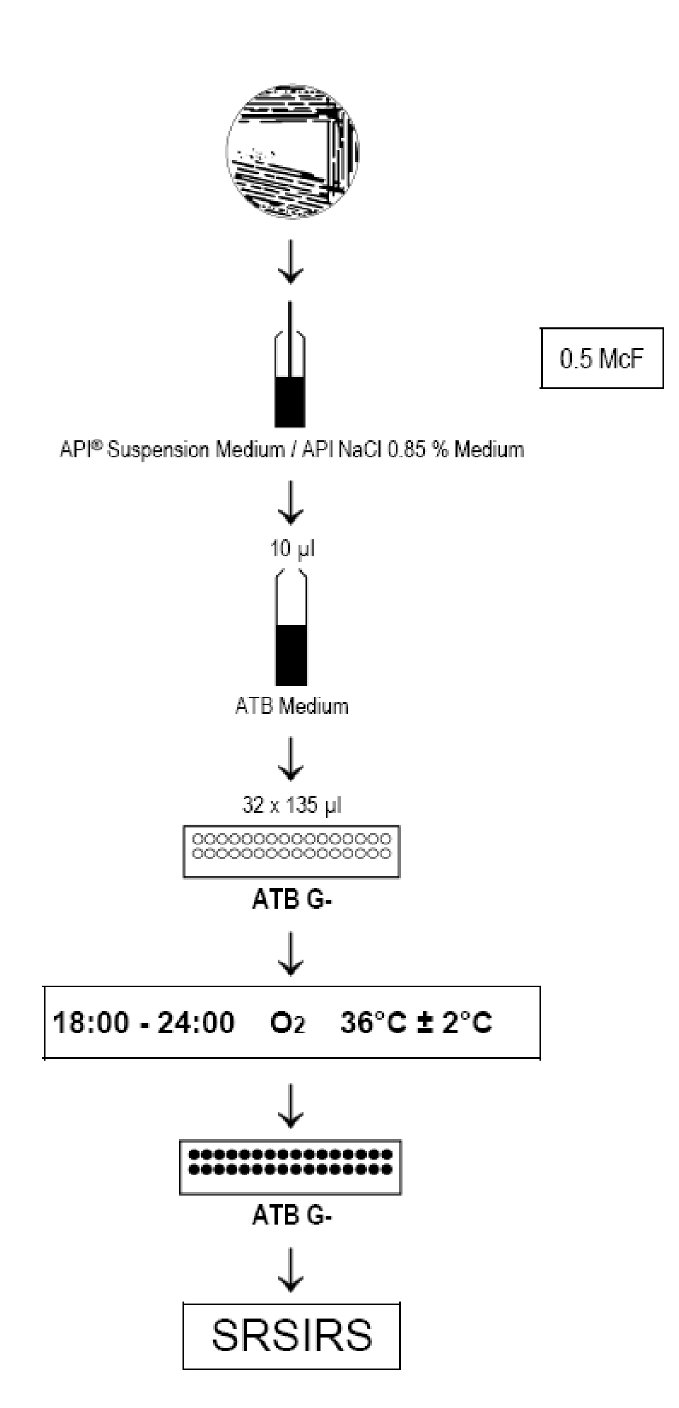
____

	c	C	R / I / S	c C mg/l
0	○	○		
AMO	○	○		4 - 16
AMC	○	○		4/2 - 16/2
TIC	○			16
TCC		○		16/2
TZP	○	○		8/4 - 64/4
PIC	○			8
IMI		○		4
CFT	○			8
CXT		○		8
CTX	○	○		4 - 32
CAZ	○	○		4 - 32
CA1	○			1
FOS		○		32
FEP	○	○		4 - 32
GEN	○			4
TOB		○		4
NET	○			4
AKN		○		8
TSU	○			2/38
NAL		○		8
OFL	○	○		1 - 4
CIP	○	○		1 - 2

Note : ______________________

____

____



Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications

ATB™ STAPH ANTIBIOGRAMME POUR LES STAPHYLOCOQUES



bioMérieux® réf.14 329 – 2008/02

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

La galerie ATB STAPH permet de déterminer la sensibilité des staphylocoques aux antibiotiques en milieu semi-solide dans des conditions très proches des techniques de référence de dilution en gélose ou de micro-dilution (selon les recommandations du CASFM ou CLSI®). La galerie ATB STAPH a été conçue en suivant les recommandations du comité CA-SFM 2003.

PRINCIPE

La galerie ATB STAPH comporte 16 paires de cupules. La première paire, sans antibiotique, sert de témoin de croissance. Les 15 suivantes contiennent des antibiotiques à une seule ou deux concentrations (c et C).
La bactérie à tester est mise en suspension puis transférée dans le milieu de culture et inoculée dans la galerie. Après incubation, la lecture de la croissance se fait soit visuellement, soit avec l'automate ATB ou miniAPI®. Le résultat obtenu permet de catégoriser la souche Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

PRESENTATION (Coffret pour 25 antibiogrammes

COMPOSITION

Galeries : La composition de la galerie ATB STAPH est mentionnée dans le tableau « Contrôle de Qualité » de cette notice.
Milieux : ATB Na Medium 2 % Mueller Hinton (origine animale) 1000 ml

Glucose	2 g
NaCl	20 g
Ca^{++} qsp	50 mg
Mg^{++} qsp	20 mg
Agar	1,5 g

pH : 7,2 - 7,4

REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS
Réactifs et instruments
- API Suspension Medium (Réf. 70 700)
- ATB Medium (Réf. 14 960)
- McFarland Standard ou DENSIMAT ou Densitomètre ATB
- Pipette Electronique ATB ou Inoculateur ATB et Embouts
- Automate ATB ou mini API avec logiciel (…)

REACTIFS COMPLEMENTAIRES

- Céfinase (Réf. 55 622)

PRECAUTIONS D'UTILISATION

Pour diagnostic in vitro uniquement.
(…)
Ouvrir les ampoules délicatement comme suit :
- Placer l'ampoule dans le protège-ampoule.
- Tenir l'ensemble verticalement dans une main (bouchon blanc vers le haut).
- Bien enfoncer le bouchon.
- Exercer une pression horizontale avec le pouce sur la partie striée du bouchon de façon à casser l'extrémité de l'ampoule.
- Retirer l'ampoule du protège-ampoule et conserver le protège-ampoule pour une utilisation ultérieure.
- Enlever délicatement le bouchon (...)

CONDITIONS DE STOCKAGE

Les galeries et milieux se conservent à 2-8°C à l'obscurité jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur le coffret.

ECHANTILLONS (PRELEVEMENT ET PREPARATION)

La galerie ATB STAPH ne doit pas être utilisée directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autres.
Les microorganismes à tester doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de bactériologie.

MODE OPERATOIRE

Sortir la galerie de son emballage. Noter l'identifiant de la bactérie à tester sur la languette latérale de la galerie.
Préparation de l'inoculum : Préparer une suspension bactérienne d'opacité équivalente à l'étalon 2 de McFarland. Comparer au témoin d'opacité du kit McFarland Standard ou utiliser le Densitomètre ATB ou le DENSIMAT.
Deux méthodes :
- culture en bouillon jusqu'à obtention de l'opacité indiquée
- mise en suspension de 1 ou plusieurs colonies fraîchement isolées (souches cultivées depuis moins de 48 heures) dans une ampoule d'API® Suspension Medium (ouvrir l'ampoule comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation" de la notice du produit).

Cette suspension doit être utilisée extemporanément.
NOTE : il est recommandé de contrôler la pureté de l'inoculum et de réisoler dans le cas de cultures mixtes.
Transférer 200 µl de cette suspension dans ATB Medium et 200 µl dans ATB Na Medium 2 % (pour le test OXA), à l'aide d'une pipette.
Inoculation de la galerie
Inoculation MANUELLE :
- Homogénéiser ATB Medium avec la Pipette Electronique ATB en évitant la formation de bulles.

Inoculer la galerie en distribuant 135 µl d'ATB Medium par cupule avec la Pipette Electronique ATB (environ $2x10^7$ germes/ml ou $3x10^6$ germes /cupule) dans chaque cupule de la galerie exceptée OXA.
- Homogénéiser ATB Na Medium 2 % avec la Pipette Electronique ATB en évitant la formation de bulles et répartir 135 µl (environ $2x10^7$ germes/ml ou $3x10^6$ germes/cupule) avec la Pipette Electronique ATB dans la cupule OXA.

Inoculation AUTOMATIQUE :
Se reporter au manuel d'utilisation de l'inoculateur ATB.
Mettre un couvercle sur la galerie.
Incuber 18-24 heures à 36 ± 2°C en aérobiose. Une incubation proche de 24 heures est toutefois recommandée pour les staphylocoques à coagulase négative.

LECTURE ET INTERPRETATION

Rechercher dans chaque cupule la présence d'un trouble (+) par lecture visuelle ou automatique par l'automate ATB ou mini API (se reporter aux manuels d'utilisation).

Pour les antibiotiques testés à deux concentrations :

Aspect de la cupule		Résultat		La souche est :	
c	C	c	C		
clair	clair	-	-	S	Sensible
trouble	clair	+	-	I	Intermédiare
trouble	trouble	+	+	R	Résistante

Pour les antibiotiques testés à une seule concentration :

Aspect de la cupule	Résultat	La souche est :	
clair	-	S	Sensible
trouble	+	R	Résistante

Lors de la lecture automatique de la galerie :
- vérifier la propreté de la partie centrale de la galerie, afin de permettre la reconnaissance du code de la galerie par le lecteur,
- vérifier la concordance entre l'intitulé imprimé sur la galerie et l'intitulé de la galerie proposé par le logiciel.

NOTES :
L'absence de croissance dans une (ou deux) cupule(s)-témoin invalide l'antibiogramme qui doit être recommencé.
Un résultat c(–) C(+) est un non-sens (N) : répéter le test avec une nouvelle galerie.
En lecture visuelle, une croissance limitée à la périphérie de la cupule doit être lue négative, sauf pour les tests Vancomycine et Teicoplanine (voir § Limites du Test).
Une galerie dont les cupules sont partiellement desséchées suite à l'incubation peut induire de faux résultats. L'antibiogramme doit être recommencé.
Triméthoprime – Sulfaméthoxazole (TSU) : Considérer comme négatif toute croissance inférieure au témoin de croissance.
Pour les espèces S. epidermidis ou S. haemolyticus, ayant une sensibilité moindre vis-à-vis de la Teicoplanine, une catégorisation Intermédiaire, au lieu de Sensible, est souvent observée avec la galerie ATB STAPH. Cette catégorisation Intermédiaire peut être confirmée par la réalisation d'une CMI et doit être différenciée de la résistance vraie, pour laquelle un résultat Résistant est obtenu.
Des croissances faibles et hétérogènes peuvent parfois être observées pour le test Kanamycine. Il n'est pas nécessaire de modifier la catégorisation fournie par l'automate.

CONTROLE DE QUALITE

Pour vérifier la standardisation de la méthode suivie, des contrôles de qualité avec la souche test indiquée pour cette galerie doivent être réalisés (voir tableau Contrôle de Qualité en fin de notice).
Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en oeuvre conformément à la législation locale en vigueur. CLSI est une marque utilisée, déposée et/ou enregistrée appartenant à Clinical and Laboratory Standards Institute Inc. ATCC est une marque utilisée, déposée et/ou enregistrée appartenant à American Type Culture Collection.

LIMITES DU TEST

Un temps d'attente entre les diverses étapes de la manipulation (de la préparation de l'inoculum à l'incubation de la galerie) peut affecter les résultats.
Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées. Des cultures mixtes ou contaminées peuvent affecter les résultats.
Pour l'espèce S. aureus, une croissance en périphérie de cupule peut être observée pour le test Teicoplanine générant parfois une non-sensibilité excessive. En cas de résultat Intermédiaire ou Résistant, il est recommandé de vérifier ce résultat en déterminant la CMI aux glycopeptides (Vancomycine et Teicoplanine).

RESULTATS ATTENDUS

Les profils de résistance des tests antibiotiques variant en fonction de la zone géographique, les résultats attendus sont donc directement dépendants de l'écologie microbienne locale (espèces / mécanismes de résistance).

PERFORMANCES

Les performances de la galerie ATB STAPH ont été déterminées en utilisant trois souchiers comprenant les espèces bactériennes suivantes : S. aureus, S. epidermidis, *S. haemolyticus, S. hominis, S. intermedius, S. saprophyticus, S. simulans, S. xylosus*.
Le premier souchier a permis d'établir le taux de concordance des catégorisations pour chaque antibiotique. Les catégorisations de référence ont été déterminées à partir des résultats de CMI obtenues avec la méthode de dilution en gélose, et comparées à celles établies par la galerie ATB STAPH. Il y a concordance lorsque les catégorisations cliniques des deux méthodes sont identiques.
Le second souchier provenant du Centre National de Référence des Antibiotiques (Institut Pasteur, Paris France) a permis de vérifier l'expression des mécanismes de résistance. Un mécanisme de résistance est exprimé lorsque les résultats de catégorisation des antibiotiques marqueurs sont compatibles avec le profil attendu.
Enfin, un résultat est dit reproductible si les 3 résultats de catégorisation déterminés de manière indépendante sont identiques.
Un troisième souchier provenant du CHU de Reims a permis d'établir la capacité du test oxacilline à détecter les Staphylocoques résistants à cet antibiotique, comparativement à la recherche du gène mecA et aux tests Céfoxitine et Oxacilline en méthode de diffusion.

Taux de concordance
Le taux de concordance de la galerie ATB STAPH obtenu à partir de 74 souches est de 91,4 %.
Les taux d'erreurs majeures et d'erreurs très majeures obtenus avec la galerie ATB STAPH sont respectivement de 4,4 % et 0,4 % (voir Notes du paragraphe Lecture et Interprétation).
Les erreurs majeures obtenues sont très fréquemment en relation avec une meilleure détection des résistances aux antibiotiques (par rapport à la méthode de dilution en gélose), particulièrement vis-à-vis des aminosides et des cyclines.

Expression des mécanismes de résistance
Indépendamment du système expert :
- Une étude portant sur 29 souches, a permis de vérifier que les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques rencontrés chez les staphylocoques s'expriment avec la galerie ATB STAPH.
- Une autre étude portant sur 300 souches (200 S. aureus et 100 staphylocoques à coagulase négative) a montré, comparativement au gène mecA, une sensibilité de détection des staphylocoques résistants à l'Oxacilline de 96 % pour la galerie ATB STAPH (85 % pour la diffusion Oxacilline après 48 heures d'incubation et 96 % pour la diffusion Céfoxitine) et une spécificité de 95 % (100 % pour les méthodes de diffusion Céfoxitine et Oxacilline).

Reproductibilité
Le taux de reproductibilité global de la galerie ATB STAPH est de 99,3 % (établi avec un minimum de 10 souches par antibiotique).

ELIMINATION DES DECHETS

(…)

CONTROLE DE QUALITE

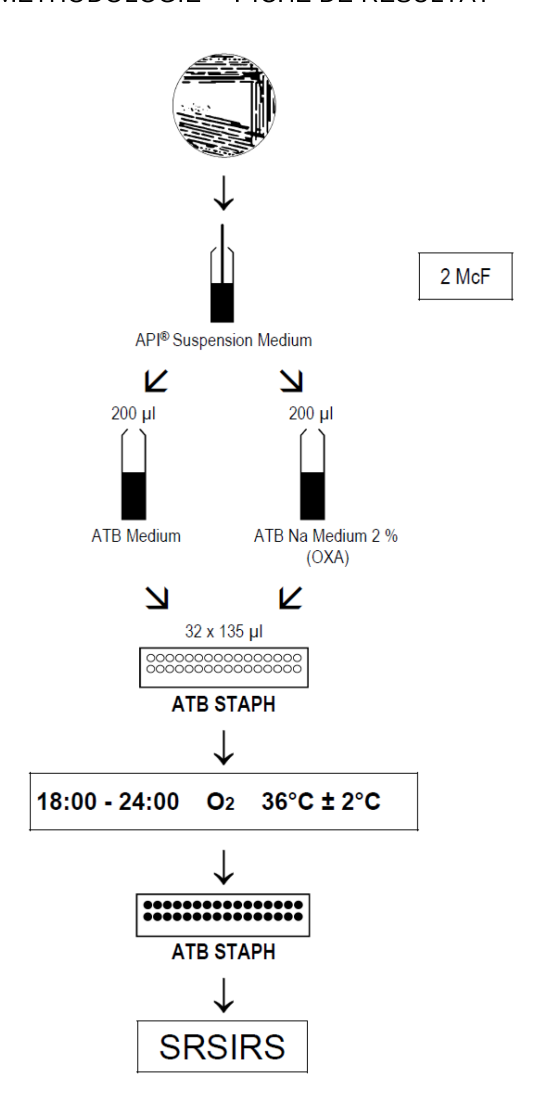
ATB STAPH Réf.14 329
Staphylocoques

			mg/l	CQ1
01.	PEN	PENICILLINE	0,25	R
	OXA	OXACILLINE	2	S
02.	KAN	KANAMYCINE	8	S
	TOB	TOBRAMYCINE	4	S
03.	GEN	GENTAMICINE	4 - 8	S
04.	ERY	ERYTHROMYCINE	1	S
	TEL	TELITHROMYCINE	0,5	S
05.	LIN	LINCOMYCINE	2	S
	FOS	FOSFOMYCINE	32	S
06.	PRI	PRISTINAMYCINE	1 - 2	S
07.	QDA	QUINUPRISTINE-DALFOPRISTINE	0,5 - 2	S
08.	TET	TETRACYCLINE	4	S
	MIN	MINOCYCLINE	4	S
09.	RFA	RIFAMPICINE	0,5 - 16	S
10.	LNZ	LINEZOLID	2 - 4	S
11.	FUC	ACIDE FUSIDIQUE	2 - 16	S
12.	LVX	LEVOFLOXACINE	1 - 4	S
13.	VAN	VANCOMYCINE	4 - 16	S
14.	TEC	TEICOPLANINE	4 - 16	S
15.	TSU	TRIMETHOPRIME SULFAMETHOXAZOLE	2/38	S
	FUR	NITROFURANTOINE	32	S

CQ1 : *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213

Les modifications de concentrations critiques liées à l'harmonisation Européenne (recommandations de l'EUCAST) ne sont pas appliquées actuellement. Elles feront l’objet d’une implémentation globale à l’issue de leur publication complète.

MÉTHODOLOGIE – FICHE DE RÉSULTAT



ATB STAPH REF **14 329**

Origine

	c	C	R / I / S	c C mg/l
0	O	O		
PEN	O			0,25
OXA		O		2
KAN	O			8
TOB		O		4
GEN	O	O		4 - 8
ERY	O			1
TEL		O		0,5
LIN	O			2
FOS		O		32
PRI	O	O		1 - 2
QDA	O	O		0,5 - 2
TET	O			4
MIN		O		4
RFA	O	O		0,5 - 16
LNZ	O	O		2 - 4
FUC	O	O		2 - 16
LVX	O	O		1 - 4
VAN	O	O		4 - 16
TEC	O	O		4 - 16
TSU	O			2/38
FUR		O		32

Note :

Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications

ATB™ UR ANTIBIOGRAMME POUR LES ENTEROBACTERIES D'ORIGINE URINAIRE

bioMérieux® réf.14 339 – 2008/02



INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

La galerie ATB UR permet de déterminer la sensibilité des entérobactéries d'origine urinaire aux antibiotiques en milieu semi-solide dans des conditions très proches des techniques de référence de dilution en gélose ou de micro-dilution (selon les recommandations du CASFM ou CLSI®/NCCLS).

PRINCIPE

La galerie ATB UR comporte 16 paires de cupules. La première paire, sans antibiotique, sert de témoin de croissance. Les 15 suivantes contiennent des antibiotiques à une seule ou deux concentrations (c et C).

La bactérie à tester est mise en suspension puis transférée dans le milieu de culture et inoculée dans la galerie. Après incubation, la lecture de la croissance se fait soit visuellement, soit avec l'automate ATB ou mini API®. Le résultat obtenu permet de catégoriser la souche Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

PRESENTATION (...)

COMPOSITION DE LA GALERIE

La composition de la galerie ATB UR est mentionnée dans le tableau « Contrôle de Qualité » de cette notice.

REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Réactifs et instruments(…)

- API Suspension Medium ou API NaCl 0,85 % Medium [en fonction de la galerie d'identification utilisée]
- ATB Medium
- McFarland Standard ou DENSIMAT ou Densitomètre ATB

Matériel(…)

PRECAUTIONS D'UTILISATION (...)

Les performances présentées sont obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut altérer les résultats.

L'interprétation et la validation des résultats de l'antibiogramme doivent être faites en tenant compte du contexte clinique, de l'origine du prélèvement, de l'identification de la souche, éventuellement des résultats de tests complémentaires et de recommandations locales en vigueur. L'interprétation et la validation sont facilitées par le système Expert ATB.

CONDITIONS DE STOCKAGE (...)

ECHANTILLONS (PRELEVEMENT ET PREPARATION)

La galerie ATB UR ne doit pas être utilisée directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autres.

Les microorganismes à tester doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de bactériologie.

MODE OPERATOIRE

Préparation de la galerie (...)

Préparation de l'inoculum

Préparer une suspension bactérienne d'opacité équivalente à l'étalon 0,5 de McFarland. Comparer au témoin d'opacité du kit McFarland Standard ou utiliser le Densitomètre ATB ou le DENSIMAT

Deux méthodes :

- culture en bouillon jusqu'à obtention de l'opacité indiquée ;
- mise en suspension de 1 ou plusieurs colonies fraîchement isolées (souches cultivées depuis moins de 48h) dans une ampoule d'API® Suspension Medium ou d'API NaCl 0,85 % Medium (ouvrir l'ampoule comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation" de la notice du produit). Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

NOTE : il est recommandé de contrôler la pureté de l'inoculum et de réisoler dans le cas de cultures mixtes.

Transférer 10 µl de cette suspension dans ATB Medium à l'aide d'une oese calibrée ou d'une pipette.

Inoculation de la galerie

Inoculation MANUELLE :

- Homogénéiser ATB Medium avec la Pipette Electronique ATB en évitant la formation de bulles.
- Inoculer la galerie en distribuant 135 µl d'ATB Medium par cupule avec la Pipette Electronique ATB (environ2 x 105 germes/ml ou 3 x 104 germes/cupule).(…)

Incuber 18-24 heures à 36 ± 2°C en aérobiose.

LECTURE ET INTERPRETATION

Rechercher dans chaque cupule la présence d'un trouble (+) par lecture visuelle ou automatique par l'automate ATB ou mini API (se reporter aux manuels d'utilisation).

Pour les antibiotiques testés à deux concentrations :

Aspect des cupules		Résultats			La souche est :
c	C	c	C		
clair	clair	-	-	S	Sensible
trouble	clair	+	-	I	Intermédiaire
trouble	trouble	+	+	R	Résistante

Pour les antibiotiques testés à une seule concentration :

Aspect de la cupule	Résultat		La souche est :
clair	-	S	Sensible
trouble	+	R	Résistante

Lors de la lecture automatique de la galerie :

- vérifier la propreté de la partie centrale de la galerie, afin de permettre la reconnaissance du code de la galerie par le lecteur,
- vérifier la concordance entre l'intitulé imprimé sur la galerie et l'intitulé de la galerie proposé par le logiciel.

NOTES :

- L'absence de croissance dans une (ou deux) cupule(s)- témoin invalide l'antibiogramme qui doit être recommencé.
- Un résultat c(–) C(+) est un non-sens (N) : répéter le test avec une nouvelle galerie.
- En lecture visuelle, une croissance limitée à la périphérie de la cupule doit être lue négative.
- Une galerie dont les cupules sont partiellement desséchées suite à l'incubation peut induire de faux résultats. L'antibiogramme doit être recommencé.
- Triméthoprime – Sulfaméthoxazole (TSU) : Considérer comme négatif toute croissance inférieure au témoin de croissance.
- Le test Ceftazidime-1 (CA1) permet au sytème Expert ATB d'améliorer la sensibilité de détection des mécanismes de résistance aux ß-lactamines, notamment des ß-lactamases à spectre élargi. Le résultat de ce test ne doit pas être rendu au clinicien.

CONTROLE DE QUALITE

Pour vérifier la standardisation de la méthode suivie, des contrôles de qualité avec la souche test indiquée pour cette galerie doivent être réalisés (voir tableau Contrôle de Qualité en fin de notice). (…)

LIMITES DU TEST
Un temps d'attente entre les diverses étapes de la manipulation (de la préparation de l'inoculum à l'incubation de la galerie) peut affecter les résultats (…)

RESULTATS ATTENDUS
Les profils de résistance des tests antibiotiques variant en fonction de la zone géographique, les résultats attendus sont donc directement dépendants de l'écologie microbienne locale (espèces / mécanismes de résistance).

PERFORMANCES
Les performances de la galerie ATB UR ont été déterminées en utilisant deux souchiers comprenant les genres bactériens suivants : Escherichia Cedecea Enterobacter Hafnia Klebsiella Citrobacter Proteus Morganella Providencia Serratia Yersinia
Le premier souchier a permis d'établir le taux de concordance des catégorisations pour chaque antibiotique. Les catégorisations de référence ont été déterminées à partir des résultats de CMI obtenues avec la méthode de dilution en gélose, et comparées à celles établies par la galerie ATB UR.
Il y a concordance lorsque les catégorisations cliniques des deux méthodes sont identiques.
Le second souchier provenant du Centre National de Référence des Antibiotiques (Institut Pasteur, Paris France) a permis de vérifier l'expression des mécanismes de résistance.
Un mécanisme de résistance est exprimé lorsque les résultats de catégorisation des antibiotiques marqueurs sont compatibles avec le profil attendu.
Enfin, un résultat est dit reproductible si les 3 résultats de catégorisation déterminés de manière indépendante sont identiques.

Taux de concordance
Le taux de concordance de la galerie ATB UR obtenu à partir de 100 souches est de 91 %.
Les taux d'erreurs majeures et d'erreurs très majeures obtenus avec la galerie ATB UR sont respectivement de 2,5 % et 0,7 %.

Expression des mécanismes de résistance
Indépendamment du système expert, l'étude, portant sur 45 souches, a permis de vérifier que les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques rencontrés chez les entérobactéries s'expriment avec la galerie ATB UR.

Reproductibilité
Le taux de reproductibilité global de la galerie ATB UR est de 94 % (établi avec un minimum de 10 souches par antibiotique).

ELIMINATION DES DECHETS (…)

CONTRÔLE QUALITÉ

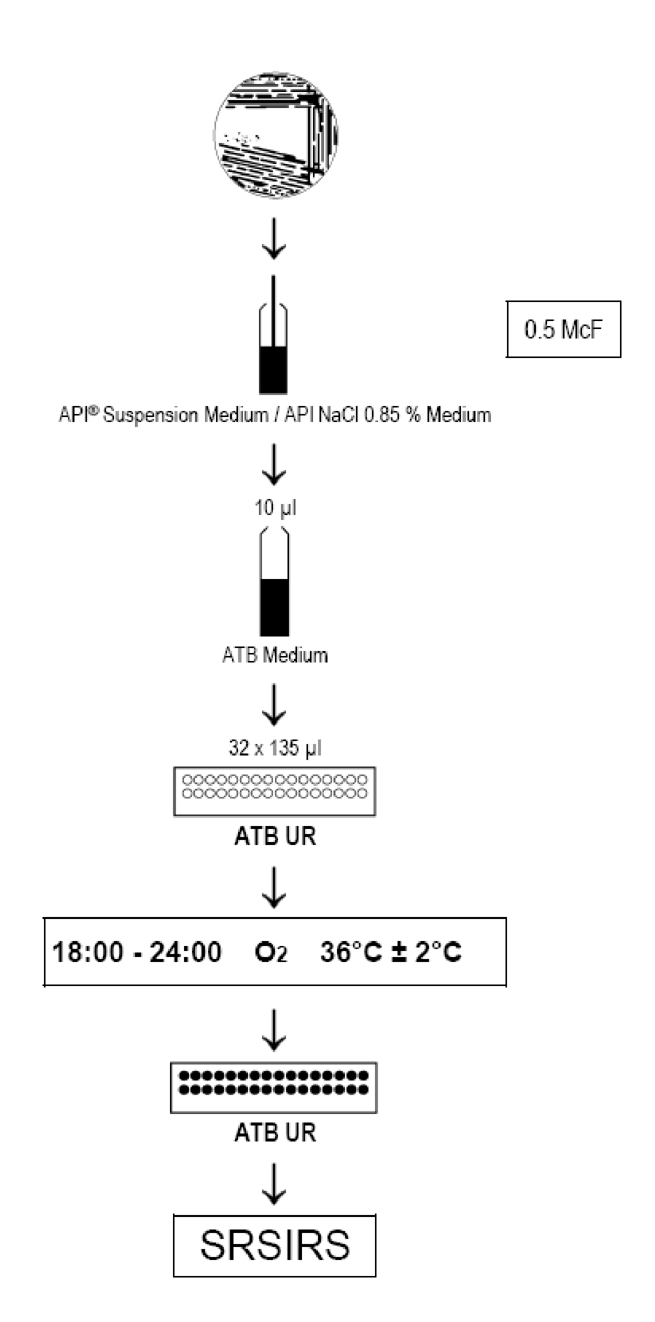
ATB UR réf.14 339
Entérobactéries urinaires

			mg/l	**CQ1**
01.	AMO	AMOXICILLINE	4 - 16	S/I
02.	AMC	AMOXICILLINE-ACIDE CLAVULANIQUE	4/2 - 16/2	S/I
03.	TIC	TICARCILLINE	16 - 64	S
04.	CFT	CEFALOTINE	8 - 32	S/I
05.	CA1	CEFTAZIDIME - 1	1	S
	CXT	CEFOXITINE	8	S
06.	CTX	CEFOTAXIME	4 - 32	S
07.	CFM	CEFIXIME	1	S
	FOS	FOSFOMYCINE	32	S
08.	CAZ	CEFTAZIDIME	4 - 32	S
09.	GEN	GENTAMICINE	4	S
	TOB	TOBRAMYCINE	4	S
10.	NET	NETILMICINE	4	S
	AKN	AMIKACINE	8	S
11.	TSU	COTRIMOXAZOLE	2/38 - 8/152	S
12.	FUR	NITROFURANTOINE	32 - 128	S
13.	NAL	ACIDE NALIDIXIQUE	8	S
	OFL	OFLOXACINE	1	S
14.	NOR	NORFLOXACINE	1 - 2	S
15.	CIP	CIPROFLOXACINE	1 - 2	S

CQ1 : Escherichia coli ATCC® 25922

La galerie ATB UR a été conçue en suivant les recommandations du comité CA-SFM 2003 (1).
Les modifications de concentrations critiques liées à l'harmonisation Européenne (recommandations de l'EUCAST) ne sont pas appliquées actuellement. Elles feront l'objet d'une implémentation globale à l'issue de leur publication complète.

METHODOLOGIE – FICHE DE RESULTAT



ATB UR REF **14 339**

Origine

____

____

	c	C	R / I / S	c C mg/l
0	○	○		
AMO	○	○		4 - 16
AMC	○	○		4/2 - 16/2
TIC	○	○		16 - 64
CFT	○	○		8 - 32
CA1	○			1
CXT		○		8
CTX	○	○		4 - 32
CFM	○			1
FOS		○		32
CAZ	○	○		4 - 32
GEN	○			4
TOB		○		4
NET	○			4
AKN		○		8
TSU	○	○		2/38 - 8/152
FUR	○	○		32 - 128
NAL	○			8
OFL		○		1
NOR	○	○		1 - 2
CIP	○	○		1 - 2

Note : ______________________________

____

____

Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications

CEFINASE™ (CEF-F) DETECTION RAPIDE DES BETA - LACTAMASES

bioMérieux® réf. 55622 – 2002/09



INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

Ce réactif permet de détecter la présence de β-lactamase chez les bactéries (staphylocoques, entérocoques, Haemophilus influenzae, Neisseria gonorrhoeae, Branhamella catarrhalis et germes anaérobies) (1, 3, 6).

PRINCIPE

Certaines bactéries ont la propriété de produire des enzymes capables d'inactiver les antibiotiques de la famille des β-lactamines (pénicillines et céphalosporines).
La production de ces enzymes est très souvent le signe d'une résistance aux β-lactamines.
Le réactif CéfinaseTM est constitué de disques de papier imprégnés de céphalosporine chromogène, qui libère un composé rouge lors de son hydrolyse par une β-lactamase (3, 4).

PRESENTATION ET COMPOSITION REF 55 622

Cartouche de 50 disques imprégnés de nitrocéfine (6 mm) en tube plastique avec dessicant.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Lames porte-objets.

MATERIEL COMPLEMENTAIRE

PRECAUTIONS D'UTILISATION

(…)
Pour informations complémentaires sur les précautions de manipulation, se référer à "Biosafety inMicrobiological and Biomedical Laboratories, HHS Publication No. (CDC) 93-8395, 3rd Edition (May 1993)", ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
Ne pas utiliser des disques présentant un aspect défectueux (humidité, coloration, ….).
Les performances présentées ont été obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.
L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte de l'espèce bactérienne considérée, du contexte épidémiologique et éventuellement des résultats d'autres tests.

CONDITIONS DE STOCKAGE

Les disques se conservent entre 2°C et 8°C dans leur cartouche jusqu'à la date de péremption.
Après ouverture, la cartouche de disques se conserve 2 mois à 2 – 8°C dans son tube plastique.

ECHANTILLONS

Le test est réalisé à partir d'une souche à tester.

MODE OPERATOIRE

1. Laisser le tube contenant la cartouche de disques revenir à température ambiante.
2. Humidifier un disque avec de l'eau déminéralisée stérile.
3. Prélever quelques colonies isolées de la souche à tester et les étaler à la surface du disque.

LECTURE ET INTERPRETATION

Observer l'apparition d'une coloration rouge traduisant une réaction positive.

Une réaction est considérée comme négative si aucune coloration n'est apparue au bout d'une heure.

CONTROLE DE QUALITE

Protocole :
L'activité des disques peut être vérifiée avec les souches suivantes : *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
Résultats attendus :

Souche	Résultat
Staphylococcus aureus ATCC 28213	+
Enterococcus faecalis ATCC 29212	-

Remarque :
Il est de la responsabilité de l'utilisateur de prendre en compte la nature de l'application et la législation locale en vigueur pour la mise en œuvre du contrôle de qualité (fréquence, nombre de souches, ...).

LIMITES DU TEST

L'efficacité du réactif Céfinase™ n'a pas été démontrée pour des germes autres que Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus influenzae, Branhamella catarrhalis, staphylocoques, entérocoques et certains germes anaérobies.
D'autres mécanismes de résistance aux pénicillines sans production de β-lactamases (imperméabilité, perte d'affinité) ont été décrits. Cette méthode rapide ne remplace pas les tests classiques de sensibilité aux antibiotiques.
Pour certaines espèces de staphylocoques (en particulier S. epidermidis), la présence d'une β- lactamase inductible peut entraîner une réaction faussement négative.
Il est conseillé de confirmer la réaction négative à partir de colonies prélevées en bordure d'un disque de méticilline.

PERFORMANCES

Les performances ont été évaluées, sur 24 souches bactériennes (staphylocoques, entérocoques, Haemophilus influenzae, Neisseria gonorrhoeae, Branhamella catarrhalis et germes anaérobies).
Résultats
Les 12 souches possédant une β-lactamase ont entraîné une coloration rouge du disque en 1 mn.
Les 12 souches ne possédant pas de β-lactamase n'ont pas provoqué l'apparition d'une coloration rouge après 1 heure.

ELIMINATION DES DECHETS

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. COUDRON P.E., MARKOWITZ S.M., WONG E.S. – Isolation of a -lactamase-producing aminoglycoside-resistant strain of Enterococcus faecium – Antimicrob. Agents and Chemother., 1992, vol. 36, n°5, p. 1125-1126.
2. MARKOWITZ S.M. - Isolation of an ampicillin-resistant, non beta-lactamase-producing strain of Haemophilus influenzae - Antimicrob. Agents and Chemother., 1980, vol. 17, n°1, p. 80-83.
3. MONTGOMERY K., RAYMUNDO L., DREW W.L. - Chromogenic cephalosporin spot test to detect betalactamase in clinically significant bacteria - J. Clin.Microbiol., 1979, vol. 9, n°2, p. 205-207.
4. O'CALLAGHAN C.H., MORRIS A., KIRBY S.M., et al. – Novel method for detection of beta-lactamases by using a chromogenic cephalosporin substrate - Antimicrob. Agents and Chemother., 1972, vol. 1, n°4, p. 283-288.
5. PEYRET M. – Mécanismes de la résistance des bactéries aux antibiotiques, Lyon Pharm., 1991, vol. 42, n°1, p. 31-41.
6. SKINNER A., WISE R. - A comparison of three rapid methods for the detection of beta-lactamase activity in Haemophilus influenzae - J. Clin. Pathol., 1977, vol. 30, n°11, p. 1030-1032



ATB FUNGUS 3 ANTIFONGIGRAMME POUR LES LEVURES

bioMérieux® réf.14 204 – 2008/04

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

La galerie ATB FUNGUS 3 permet de déterminer la sensibilité des Candida et Cryptococcus neoformans aux antifongiques en milieu semi-solide dans des conditions très proches de la technique de référence de microdilution (selon les recommandations de l'EUCAST (1, 6, 8) et du CLSI/NCCLS (2, 6)).

PRINCIPE

La galerie ATB FUNGUS 3 comporte 16 paires de cupules. La première paire, sans antifongique, sert de témoin de croissance. Les 15 suivantes contiennent 5 antifongiques à plusieurs concentrations permettant de déterminer des CMI et/ou des catégories cliniques.

La levure à tester est mise en suspension puis transférée dans le milieu de culture et inoculée dans la galerie.

Après incubation, la lecture de la croissance se fait soit visuellement, soit avec l'automate ATB ou ***mini API ®.***

Le résultat obtenu permet de fournir une CMI (Amphotéricine B [AMB], Fluconazole [FCA], Itraconazole [ITR], Voriconazole [VRC]) et/ou de catégoriser la souche Sensible, Intermédiaire ou Résistante (Flucytosine [5FC]).

PRESENTATION (...)

COMPOSITION

Galeries

La composition de la galerie ATB FUNGUS 3 est mentionnée dans le tableau « Contrôle de Qualité » de cette notice.

Milieu ATB F2 Medium

Yeast Nitrogen Base	6,7 g
Glucose	6,5 g
Asparagine	1,5 g
Phosphate disodique	2,5 g
Citrate trisodique	2,5 g
Nitrate de potassium	5,5 g
Agar	1,5 g
Eau déminéralisée	1000 ml

pH : 6,5 – 6,8

NOTE : selon les ampoules d'ATB F2 Medium, il est possible d'observer de légères variations de coloration du milieu. Ceci n'engendre pas de modifications des performances du produit.

REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Réactifs et instruments

- API NaCl 0.85 % Medium ou API Suspension Medium
- McFarland Standard ou DENSIMAT ou Densitomètre ATB
- Pipette Electronique ATB (consulter bioMérieux) ou Inoculateur ATB et Embouts (Réf 15 710)
- Automate ATB ou mini API avec logiciel

Matériel

- Pipette
- Protège-ampoule
- Portoir pour ampoules
- Boites hermétiques type Jarre «GENbox» (bioMérieux)
- Equipement général de laboratoire de bactériologie

PRECAUTIONS D'UTILISATION (...)

Les performances présentées sont obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut altérer les résultats.

L'interprétation et la validation des résultats de l'antifongigramme doivent être faites en tenant compte du contexte clinique, de l'origine du prélèvement, de l'identification de la souche, éventuellement des résultats de tests complémentaires et des recommandations locales en vigueur. L'interprétation et la validation sont facilitées par le système Expert ATB.

CONDITIONS DE STOCKAGE

Les galeries et milieux se conservent à 2-8°C à l'obscurité jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur le coffret.

ECHANTILLONS (PRELEVEMENT ET PREPARATION)

La galerie ATB FUNGUS 3 ne doit pas être utilisée directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autres.

Les microorganismes à tester doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de microbiologie. Les milieux d'isolement bioMérieux suivants peuvent être utilisés :

- Gélose Sabouraud 2,
- Gélose Sabouraud + 2 % Glucose [milieu recommandé par l'EUCAST (1, 8) et le CLSI/NCCLS (2)],
- Gélose Sabouraud Gentamicine-Chloramphénicol 2,
- Gélose CPS ID 3,
- Gélose Columbia + 5 % sang de mouton,
- Gélose Trypcase Soja + 5 % sang de cheval,
- Gélose Chocolat + PolyViteX,
- Gélose BCP,
- Gélose Candida ID 2.

MODE OPERATOIRE

Préparation de la galerie

Sortir la galerie de son emballage.

Noter l'identifiant de la levure à tester sur la languette latérale de la galerie.

Préparation de l'inoculum

Ouvrir une ampoule d'API® NaCl 0.85 % Medium (ou API Suspension Medium) comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation" de la notice du produit.

A l'aide d'une pipette, prélever plusieurs colonies dont l'âge n'excède pas 4 jours. Réaliser une suspension d'opacité équivalente à **l'étalon 2 de McFarland**.

Comparer au témoin d'opacité du kit McFarland Standard ou utiliser le Densitomètre ATB ou le DENSIMAT (se reporter au manuel d'utilisation).

Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

NOTE : il est recommandé de contrôler la pureté de l'inoculum et de réisoler dans le cas de cultures mixtes.

Transférer 20 µl de cette suspension dans ATB F2 Medium à l'aide d'une pipette.

Inoculation de la galerie

Inoculation MANUELLE :

- Homogénéiser ATB F2 Medium avec la Pipette Electronique ATB en évitant la formation de bulles.
- Inoculer la galerie en distribuant 135 µl d'ATB F2 Medium par cupule avec la Pipette Electronique ATB (environ $3x10^4$ levures/ml ou $4x10^3$ levures/cupule).

Inoculation AUTOMATIQUE :

Se reporter au manuel d'utilisation de l'inoculateur ATB.

Mettre un couvercle sur la galerie.

Placer la galerie dans une boîte hermétique ou en jarre type GENbox contenant du papier absorbant humide.

Incuber pendant 24 heures (± 2 heures) pour les Candida et 48 heures (± 6 heures) pour les Cryptococcus neoformans à 35°C (± 2°C) en aérobiose.

LECTURE ET INTERPRETATION

Vérifier la présence d'une croissance suffisante dans les cupules témoins. Pour les Candida, en cas de croissance insuffisante rendant la lecture de la galerie difficile ou impossible après 24 heures d'incubation, réincuber 24 heures supplémentaires dans les mêmes conditions.

1. Détermination de la CMI (AMB, FCA, ITR, VRC) :
Rechercher et quantifier dans chaque cupule une croissance par lecture visuelle ou automatique par l'automate ATB ou mini API (se reporter aux manuels d'utilisation).

Avant de procéder à la lecture visuelle, il est recommandé de poser la galerie sur un fond noir (planche de lecture ATB FUNGUS 3 disponible auprès de bioMérieux). Pour chaque antifongique, partir de la concentration la plus faible et noter sur la fiche de résultats un score de croissance pour chacune des cupules comparativement aux cupules témoin :

Définition	**Score**
Absence de réduction de croissance	4
Légère réduction de croissance	3
Réduction marquée de croissance	2
Très faible croissance	1
Absence de croissance	0

- Pour l'Amphotéricine B (AMB), la CMI correspond à la concentration la plus faible permettant d'obtenir une inhibition complète de la croissance (score 0).

Note : une (ou des) colonie(s) isolée(s) ou un aspect de croissance en périphérie de cupule doit être lu avec un score 1.

- Pour le Fluconazole (FCA), l'Itraconazole (ITR) et le Voriconazole (VRC), du fait de la possibilité d'un phénomène de croissance résiduelle, la CMI correspond à la concentration d'antifongiques la plus faible permettant d'obtenir un score 2, 1 ou 0.

Note : un aspect de croissance en périphérie d cupule doit être lu avec un score 0 ou 1.

2. Interprétation de la Flucytosine (5FC) :
Rechercher et quantifier dans les deux cupules une croissance par lecture visuelle ou automatique par l'automate ATB ou mini API ® (se reporter aux manuels d'utilisation). Pour la Flucytosine testée à deux concentrations :

Aspect des cupules		Résultats			La souche est :
c	C	c	C		
0/1/2	0/1/2	-	-	S	Sensible
3/4	0/1/2	+	-	I	Intermédiaire
3/4	3/4	+	+	R	Résistante

Notes :
- La définition des scores de croissance est la même que celle décrite ci-dessus pour la détermination des CMI.
- Un aspect de croissance en périphérie de cupule doit être lu avec un score 0 ou 1.

3. Concentrations critiques utilisées :

Concentrations critiques (mg/L) recommandées par le CLSI/NCCLS pour Candida spp			
	S	**I**	**R**
Flucytosine	≤ 4	8 – 16	≥ 32
Amphotérocine B*	ND	ND	ND
Fluconazole	≤ 8	16 - 32	≥ 64
Itrconazole	≤ 0,125	0,25 – 0,5	≥ 1
Voriconazole	≤ 1	2	≥ 4

ND : Non formellement défini par le CLSI/NCCLS

Notes :
- *Candida krusei* étant une espèce intrinsèquement résistante au Fluconazole, le test doit être interprété R systématiquement.
- *: pour l'Amphotéricine B, une CMI ≥ 2 mg/l suggère une résistance (2).

Données fournies à titre informatif (absence de recommandations officielles) :

Concentrations critiques (mg/L) recommandées par le CLSI/NCCLS pour Candida spp			
	S	**I**	**R**
Flucytosine	≤ 4	8 – 16	≥ 32
Amphotérocine B*	ND	ND	ND
Fluconazole	≤ 4	8	≥ 16
Itrconazole	ND	ND	ND
Voriconazole	ND	ND	ND

ND : Non Défini
( ) : Référence bibliographique

Note :
- *: pour l'Amphotéricine B, une CMI ≥ 2 mg/l suggère une résistance (les CMI habituellement obtenues pour *Cr. neoformans* sont 0,5 et 1 mg/l).

NOTES :
Lors de la lecture automatique de la galerie :
- vérifier la propreté de la partie centrale de la galerie, afin de permettre la reconnaissance du code de la galerie par le lecteur,
- vérifier la concordance entre l'intitulé imprimé sur la galerie et l'intitulé de la galerie proposé par le logiciel.

L'absence de croissance dans une (ou deux) cupule(s)-témoin invalide l'antifongigramme qui doit être recommencé.

Une galerie dont les cupules sont partiellement desséchées suite à l'incubation peut induire de faux résultats. L'antifongigramme doit être recommencé.

Pour l'Amphotéricine B (AMB), et en cas de lecture automatique, il est recommandé de contrôler visuellement l'absence de colonies isolées ou de croissance en périphérie de cupule (interpréter avec un score 1).

Pour le Fluconazole (FCA), l'Itraconazole (ITR) et le Voriconazole (VRC), la catégorisation Intermédiaire obtenue avec ATB FUNGUS 3 est assimilée à la catégorisation SDD (Sensibilité Dose Dépendante) définie par le CLSI/NCCLS (2).

CONTROLE DE QUALITE
Pour vérifier la standardisation de la méthode suivie, des contrôles de qualité avec les souches tests indiquées pour cette galerie doivent être réalisés (voir tableau Contrôle de Qualité en fin de notice).

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en œuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITES DU TEST
Un temps d'attente entre les diverses étapes de la manipulation (de la préparation de l'inoculum à l'incubation de la galerie) peut affecter les résultats.

Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées. Des cultures mixtes ou contaminées peuvent affecter les résultats.

L'espèce Candida haemulonii ne doit pas être testée avec la galerie ATB FUNGUS 3 du fait d'une croissance variable entraînant une interprétation aléatoire des CMI aux antifongiques.

Les espèces C. albicans, C. dubliniensis et C. tropicalis, peuvent présenter un phénomène de croissance résiduelle (trailing growth) entraînant une surestimation des CMI des antifongiques azolés (Fluconazole, Itraconazole, Voriconazole), plus particulièrement en cas de lecture automatisée de la galerie ATB FUNGUS 3. En conséquence, il est recommandé de vérifier visuellement

les CMI des antifongiques azolés pour ces espèces, notamment dans le cas d'une résistance apparente au Voriconazole (du fait de la résistance très peu fréquente à cet antifongique).
Il est recommandé d'interpréter Intermédiaire (I) les souches de C. glabrata présentant un résultat Sensible (S) au Fluconazole et/ou à l'Itraconazole, du fait d'une moindre sensibilité naturelle de cette espèce vis-à-vis de ces antifongiques.

RESULTATS ATTENDUS
Les profils de résistance des tests antifongiques variant en fonction de la zone géographique, les résultats attendus sont donc directement dépendants de l'écologie microbienne locale (espèces / mécanismes de résistance).
PERFORMANCES
Les performances de la galerie ATB FUNGUS 3 ont été déterminées en utilisant trois souchiers comprenant les espèces de levures suivantes :

- *Candida albicans*
- *Candida dubliniensis*
- *Candida famata*
- *Candida glabrata*
- *Candida guilliermondii*
- *Candida kefyr*
- *Candida krusei*
- *Candida lusitaniae*
- *Candida norvegensis*
- *Candida parapsilosis*
- *Candida tropicalis*
- *Cryptococcus neoformans*

Le premier souchier a permis d'établir le taux d'exactitude des CMI ou de concordance en catégorie (5FC) pour chaque antifongique. Les CMI de référence ont été déterminées selon les recommandations CLSI/NCCLS (2) et EUCAST (1), sauf pour l'Amphotéricine B et sauf pour Cryptococcus neoformans qui ne disposent pas de recommandations EUCAST.
Il y a exactitude lorsque les CMI obtenues avec ATB FUNGUS 3 sont identiques, à ± 2 dilutions près, à cellesdéterminées par la méthode de référence.
Le second souchier a permis de vérifier l'expression des mécanismes de résistance. Un mécanisme de résistance est exprimé lorsque les résultats de CMI ou de catégorisation des antifongiques marqueurs sont compatibles avec le profil attendu.
Le troisième souchier a permis d'établir la reproductibilité de la galerie ATB FUNGUS 3. Un résultat est dit reproductible si les 3 résultats de CMI déterminés demanière indépendante sont identiques à ± 1 dilution près.
Exactitude
Le taux d'exactitude de la galerie ATB FUNGUS 3 obtenu à partir de 120 souches est de 97,5 % pour la lecture
visuelle et de 91 % pour la lecture automatique et la méthode CLSI/NCCLS. Il est de 94,3 % pour la lecture
visuelle et de 88,3 % pour la lecture automatique et la méthode EUCAST.
Le taux d'exactitude en CMI (%) pour FCA, ITR, AMB et VRC et le taux de concordance en catégorie (%) pour 5FC sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

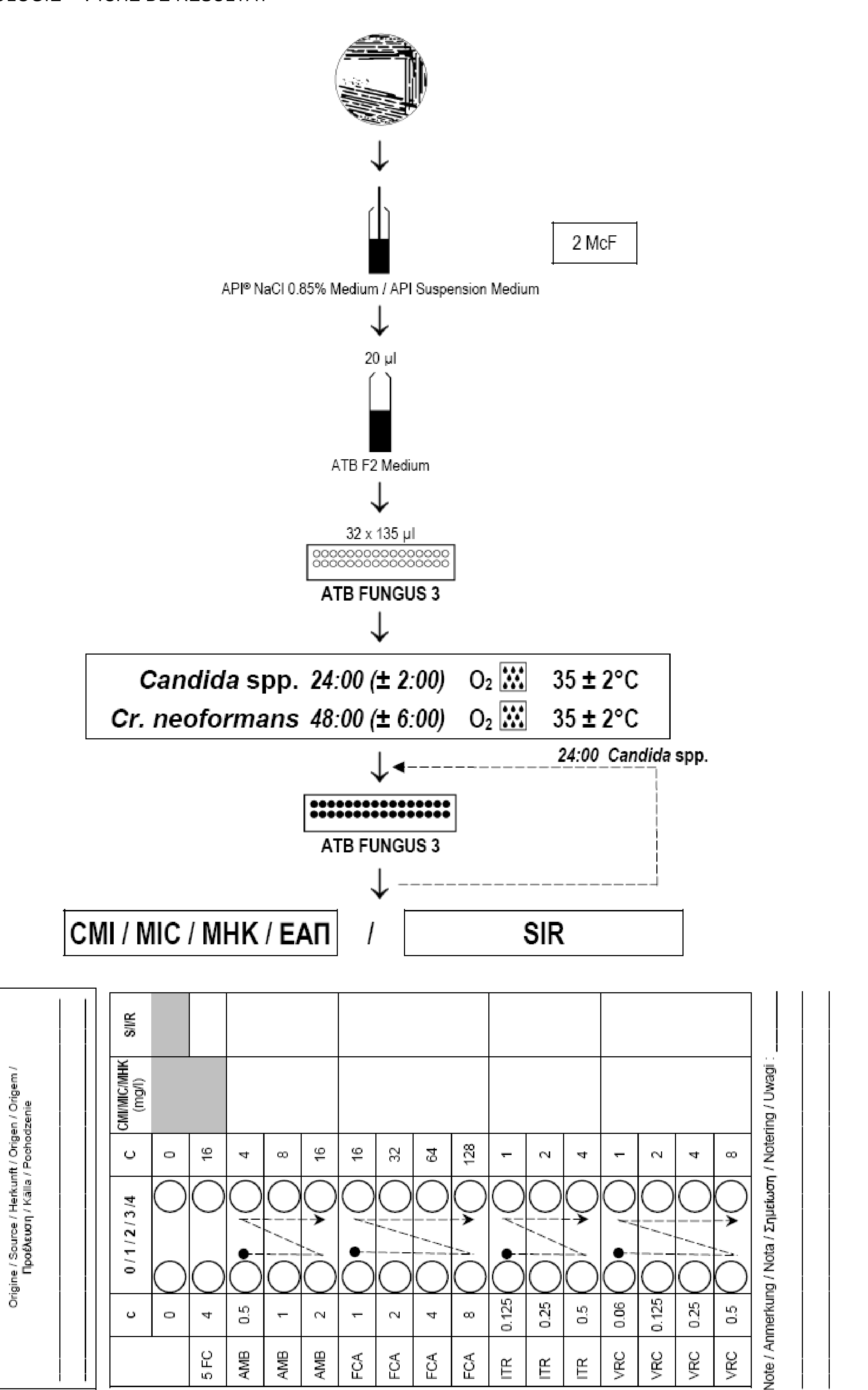
	5FC	FCA	ITR	AMB	VRC
Lecture visuelle (CLSI/NCCLS)	95	96	97	100	97
Lecture automatique (CLSI/NCCLS)	93	86	89	100	89
Lecture visuelle (EUCAST)	89	94	92	NA	97
Lecture automatique (EUCAST)	89	85	92	NA	88

NA : absence de recommandations EUCAST
Expression des mécanismes de résistance
L'étude, portant sur 20 souches, a permis de vérifier que les principaux mécanismes de résistance aux antifongiques azolés s'expriment avec la galerie ATB FUNGUS 3 avec les 2 modes de lecture.
Reproductibilité
Le taux de reproductibilité global de la galerie ATB FUNGUS 3 est de 98,4 % pour la lecture visuelle et de 99 % pour la lecture automatique (établi avec 29 souches).

ELIMINATION DES DECHETS (…)

1. Subcommittee of Antifungal Testing of the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Method for the Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) by Broth Dilution of Fermentative Yeasts. (2002) EUCAST Discussion document E. Dis 7.1 ESCMID.
2. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. NCCLS M27-A2, August 2002.
3. CLSI Summary Minutes Subcommittee on Antifungal Susceptibility Tests – Tampa, Florida – 8 January 2005.
4. ALLER A.I., MARTIN-MAZUELOS E., GUTIERREZ M.J. et coll. Comparison of the Etest and microdilution method for antifungal susceptibility testing of Cryptococcus neoformans to four antifungal agents. (2000) J. Antimicrob. Chemother., 46, 997-1000.
5. ALLER A.I., MARTIN-MAZUELOS E., LOZANO F. et coll. Correlation of Fluconazole MICs with Clinical Outcome in Cryptococcal Infection. (2000) Antimicrob. Agents Chemother., 44, 6, 1544-1548.
6. CUENCA-ESTRELLA M., LEE-YANG W., CIBLAK M. A. et coll. Comparative Evaluation of NCCLS M27-A and EUCAST Broth Microdilution Procedures for Antifungal Susceptibility Testing of Candida Species. (2002) Antimicrob. Agents Chemother., 46,11, 3644-3647.
7. CUENCA-ESTRELLA M., MELLADO E., GOMEZ-LOPEZ A. et coll. Evaluation of the Commercial Method ATB FUNGUS 2 for the Detection in Vitro of Antifungal Resistance and its Correlation with the Reference Method of the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST), and the Micromethod of the NCCLS. Poster 1514, 45th Annual ICAAC, New Orleans, September 2005.
8. CUENCA-ESTRELLA M., MOORE C.B., BARCHIESI F., et coll. Multicenter evaluation of the reproducibility of the proposed antifungal susceptibility testing method for fermentative yeasts of the Antifungal Susceptibility Testing Subcommittee of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (AFST-EUCAST). (2003) Clin. Microbiol. Infect., 9, 6, 467.
9. DURUSSEL C., PARRENO D., NOUGIER L., MONNIN V., ZAMBARDI G., BILLE J. Comparative Study of various Methods (NCCLS M27-A2, EUCAST) and ATB FUNGUS 2 (bioMérieux) for the In Vitro Antifungal Susceptibility Testing of Candida sp. Poster P-1628, PRAHA 2004 14th ECCMID.
10. REX. J.H., PFALLER M.A., WALSH T.J. et coll. Antifungal Susceptibility Testing: Practical Aspects and Current Challenges. (2001) Clin. Microbiol. Reviews, 14, 4, 643-658.
11. TORRES-RODRIGUEZ J.M., MORERA-LOPEZ Y., JIMENEZ-CABELLO T., NOUGIER L., BOSSY G., ZAMBARDI G. ATB FUNGUS 2 for In Vitro Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Comparative Study with Sensititre Yeast One and the Reference M27-A Method. Poster P-037, ECMM Congress, Juin 2004, Wroclaw, Poland.

METHODOLOGIE – FICHE DE RESULTAT



Contrôle de qualité

ATB FUNGUS 3 — REF 14 204

Levures / Yeasts / Hefen / Levaduras / Lieviti / Leveduras / Ζύμες / Jästsvampar / Drożdżaki

Position Posición Posizione Posição Θέση Pozycja	Sigle Abbreviation Abkürzung Abreviatura Abbreviazione Συντομογραφία Förkortning Skrót		Antifongique / Antifungal agent / Antimykotikum / Antifúngico / Antimicotico / Αντιμυκητιασικός παράγοντας / Antimykotikum / Lek przeciwgrzybowy		mg/l	
00			TEMOIN / CONTROL / KONTROLLE / CONTROLLO / CONTROLO / ΈΛΕΓΧΟΣ / KONTROLL / KONTROLA	TEMOIN / CONTROL / KONTROLLE / CONTROLLO / CONTROLO / ΈΛΕΓΧΟΣ / KONTROLL / KONTROLA		
01	5FC	5FC	FLUCYTOSINE / FLUCYTOSIN / FLUCITOSINA / ΦΛΟΥΚΥΤΟΣΙΝΗ / FLUCITOSIN / FLUCYTOZYNA	FLUCYTOSINE / FLUCYTOSIN / FLUCITOSINA / ΦΛΟΥΚΥΤΟΣΙΝΗ / FLUCITOSIN / FLUCYTOZYNA	4	16
02	AMB	AMB	AMPHOTERICINE B / AMPHOTERICIN B / ANFOTERICINA B / ΑΜΦΟΤΕΡΙΚΙΝΗ B / AMFOTERICIN B / AMFOTERYCYNA B	AMPHOTERICINE B / AMPHOTERICIN B / ANFOTERICINA B / ΑΜΦΟΤΕΡΙΚΙΝΗ B / AMFOTERICIN B / AMFOTERYCYNA B	0.5	4
03					1	8
04					2	16
05	FCA	FCA	FLUCONAZOLE / FLUCONAZOL / FLUCONAZOLO / ΦΛΟΥΚΟΝΑΖΟΛΗ / FLUKONAZOL	FLUCONAZOLE / FLUCONAZOL / FLUCONAZOLO / ΦΛΟΥΚΟΝΑΖΟΛΗ / FLUKONAZOL	1	16
06					2	32
07					4	64
08					8	128
09	ITR	ITR	ITRACONAZOLE / ITRACONAZOL / ITRACONAZOLO / ΙΤΡΑΚΟΝΑΖΟΛΗ / ITRAKONAZOL	ITRACONAZOLE / ITRACONAZOL / ITRACONAZOLO / ΙΤΡΑΚΟΝΑΖΟΛΗ / ITRAKONAZOL	0.125	1
A					0.25	2
B					0.5	4
C	VRC	VRC	VORICONAZOLE / VORICONAZOL / VORICONAZOLO / VORIKONAZOΛΗ / VORIKONAZOL / WORIKONAZOL	VORICONAZOLE / VORICONAZOL / VORICONAZOLO / VORIKONAZOΛΗ / VORIKONAZOL / WORIKONAZOL	0.06	1
D					0.125	2
E					0.25	4
F					0.5	8

QC1 : *Candida parapsilosis* ATCC® 22019	
5FC	S
AMB	CMI/MIC/MHK/ΕΑΠ ≤ 0.5 mg/l
FCA	CMI/MIC/MHK/ΕΑΠ = 1 - 4 mg/l
ITR	CMI/MIC/MHK/ΕΑΠ ≤ 0.125 - 0.25 mg/l
VRC	CMI/MIC/MHK/ΕΑΠ ≤ 0.06 - 0.125 mg/l

QC2 : *Candida krusei* ATCC 6258	
5FC	I/R
AMB	CMI/MIC/MHK/ΕΑΠ ≤ 0.5 - 2 mg/l
FCA	CMI/MIC/MHK/ΕΑΠ = 8 - 32 mg/l
ITR	CMI/MIC/MHK/ΕΑΠ ≤ 0.125 - 0.5 mg/l
VRC	CMI/MIC/MHK/ΕΑΠ = 0.125 - 0.5 mg/l